



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

KAREN ANTONIA GIROTTI TAKAZAKI

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO AUTÔNOMICA E DA CARDIOMIOPATIA NA
ATAXIA DE FRIEDREICH**

*ASSESSMENT OF AUTONOMIC FUNCTION AND CARDIOMYOPATHY IN
FRIEDREICH'S ATAXIA*

CAMPINAS
2019

KAREN ANTONIA GIROTTI TAKAZAKI

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO AUTÔNOMICA E DA CARDIOMIOPATIA NA
ATAXIA DE FRIEDREICH**

*ASSESSMENT OF AUTONOMIC FUNCTION AND CARDIOMYOPATHY IN
FRIEDREICH'S ATAXIA*

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas, Área de Concentração Neurologia

Thesis presented to the Faculty of Medical Sciences of the State University of Campinas as a part of the requirements for obtaining the degree of Doctorate in Medical Sciences, Area of Concentration Neurology.

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCONDES CAVALCANTE FRANÇA JUNIOR
COORIENTADOR: PROF^a DRA ANAMARLI NUCCI

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA
ALUNA KAREN ANTONIA GIROTTI TAKAZAKI, E ORIENTADO PELO
PROF. DR. MARCONDES CAVALCANTE FRANÇA JUNIOR.

CAMPINAS
2019

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): Não se aplica.

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas Maristella Soares dos
Santos - CRB 8/8402

T139a Takazaki, Karen Antonia Giroto, 1979-
Avaliação da função autonômica e da cardiomiopatia na Ataxia de
Friedreich / Karen Antonia Giroto Takazaki. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Marcondes Cavalcante França Junior.

Coorientador: Anamarli Nucci.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Ciências Médicas.

1. Ataxia de Friedreich. I. França Junior, Marcondes Cavalcante, 1976-.
II. Nucci, Anamarli, 1947-. III. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Assessment of autonomic function and cardiomyopathy in
Friedreich's Ataxia

Palavras-chave em inglês:

Friedreich Ataxia

Área de concentração: Neurologia

Titulação: Doutora em Ciências Médicas

Banca examinadora:

Marcondes Cavalcante França Junior [Orientador]

André Schmidt

Carlos Otto Heise

Wilson Nadruz Junior

Alfredo Damasceno

Data de defesa: 22-02-2019

Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DOUTORADO

KAREN ANTONIA GIROTTI TAKAZAKI

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCONDES CAVALCANTE FRANÇA JUNIOR

COORIENTADORA: PROFA. DRA. ANAMARLI NUCCI

MEMBROS:

1. PROF. DR. MARCONDES CAVALCANTE FRANÇA JUNIOR

2. PROF. DR. ANDRÉ SCHMIDT

3. PROF. DR. CARLOS OTTO HEISE

4. PROF. DR. WILSON NADRUZ JUNIOR

5. PROF. DR. ALFREDO DAMASCENO

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data de Defesa: 22/02/2019

DEDICATÓRIA

A Régis, meu marido, pela
paciência e apoio constantes,

Às minhas amadas filhas
Lavínia e Amanda, por compartilharem destes momentos,

A meus pais, Humberto e
Luzia, por todo suporte e alegria.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr Marcondes Cavalcante França Jr, médico admirável, pelo aprendizado e por todo o suporte durante a minha carreira.

Ao professor Otavio Coelho Filho, pela oportunidade em trabalhar em conjunto com a cardiologia, e ao colega Thiago Quinaglia, pelo suporte dado em vários momentos.

À minha estimada orientadora Dra Anamarli Nucci pelo ensino da ética e da dedicação.

Aos professores e médicos do departamento de Neurologia da FCM - UNICAMP, na figura dos Drs Fernando Cendes e Benito Damasceno.

Aos colegas da pós-graduação, do Laboratório de Neuroimagem e do Laboratório de Eletroneuromiografia.

Aos pacientes e seus familiares.

A Deus, por sua imensa bondade.

Resumo

Ataxia de Friedreich (AF) é a ataxia autossômica recessiva mais comum no mundo, causada por expansões GAA em homozigose no gene FXN que levam à disfunção mitocondrial. Manifestações como o dano cardíaco e a disfunção autonômica foram pouco explorados na doença. Assim, os objetivos desta tese são: (a) determinar a frequência e o perfil das alterações autonômicas na AF e (b) caracterizar a cardiomiopatia associada à AF utilizando a ressonância magnética cardíaca (RMC). Na primeira parte da pesquisa (a), realizamos uma avaliação clínica e eletrofisiológica autonômica detalhada em 28 pacientes com confirmação molecular de AF e 24 controles saudáveis semelhantes em relação a idade e sexo. A escala FARS (Friedreich's Ataxia Rating Scale), e o questionário SCOPA-AUT (Scales for Outcomes in Parkinson's Disease – Autonomic Questionnaire) foram usados para mensurar a ataxia e a disautonomia. Avaliamos a variabilidade da frequência cardíaca em repouso, no desafio ortostático, manobra de Valsalva e respiração profunda, e avaliamos o reflexo sudomotor axonal quantitativo, QSART. No grupo com AF, nós estudamos 11 homens e a idade média foi 31.5 ± 11.1 anos. A média do escore SCOPA-AUT foi de 15.1 ± 8.1 . A análise do intervalo RR mostrou-se semelhante ($p > 0.05$), exceto pelo intervalo RR mínimo em repouso, que foi maior nos pacientes em comparação aos controles (Mediana 649.5, IQR 98.0 x 724.0, IQR 98.0ms, $p < 0.001$). As respostas de suor foram significativamente menores nos pacientes em todos os sítios examinados (antebraço 0.389, IQR 0.783 x 1.309, IQR 0.842 μ L; perna proximal 0.406, IQR 1.050 x 1.107, IQR 1.011 μ L; perna distal 0.491, IQR 1.191 x 1.232, IQR 1.01 μ L; pé 0.265, IQR 0.763 x 0.708, IQR 0.416 μ L; valor de $p < 0.05$). Os volumes de suor se correlacionaram com os escores FARS. Na segunda parte da pesquisa (b), nós escaneamos 27 pacientes com AF (idade média 26.6 ± 9.3 anos, 15 mulheres) e sem insuficiência cardíaca num equipamento de 3T. Mapeamento T1 antes e após contraste foi utilizado para avaliar a fração do volume extracelular miocárdico (VEC) e o tempo de difusão da água intracelular (τ_{ic}), uma medida de hipertrofia do cardiomiócito. O escore FARS foi usado para medir a gravidade da doença. Dez controles saudáveis realizaram RMC para comparação (idade média 34.9 ± 8.5 , 4 mulheres). Os pacientes com AF tiveram aumento significativo do índice de massa do VE (62.7 ± 23 vs. 45.1 ± 6.8 g/m², $p < 0.01$). Ambos VEC e τ_{ic} estavam aumentados nos pacientes (VEC: 0.36 ± 0.05 vs. 0.25 ± 0.01 , $p < 0.0001$; τ_{ic} : 0.13 ± 0.07 vs. 0.06 ± 0.02 , $p = 0.001$). VEC demonstrou uma associação negativa com o índice de volume do ventrículo esquerdo no final da diástole ($r = -0.5$, $P < 0.001$). τ_{ic} teve uma associação negativa com FARS ($r = -0.55$, $P = 0.02$), FARS foi associado positivamente com o tempo desde o diagnóstico ($r = -0.68$, $P < 0.001$), sugerindo que a progressão da AF no coração pode resultar em regressão da hipertrofia do cardiomiócito. Em conclusão, os resultados

de ambos estudos indicam que (a): disfunção sudomotora, mas não cardiovascular foi frequente em pacientes com AF, e as fibras nervosas finas pós-ganglionares colinérgicas estão afetadas; e (b) pacientes com AF tem cardiomiopatia hipertrófica caracterizada tanto por hipertrofia dos cardiomiócitos quanto por deposição de colágeno.

Palavras-chave: Ataxia de Friedreich

Abstract

Friedreich ataxia (FRDA) is the most frequent autosomal recessive ataxia worldwide. Caused by homozygous GAA expansions at FXN that ultimately lead to mitochondrial dysfunction. Manifestations such cardiac damage and autonomic dysfunction have not been properly explored. Therefore, the objectives of this thesis are: (a) To determine the frequency and profile of autonomic manifestations in FRDA and (b) to characterize FRDA-related cardiomyopathy using cardiac magnetic resonance (CMR). In the first part of the study (a), we have performed clinical and detailed electrophysiological autonomic evaluation of 28 patients with molecular confirmation of FRDA and 24 healthy controls matched by age and gender. We used the FARS scale (Friedreich's Ataxia Rating Scale) and the SCOPA-AUT questionnaire (Scales for Outcomes in Parkinson's Disease – Autonomic Questionnaire) to quantify ataxic and dysautonomic manifestations. We also studied the heart rate variability at rest, during the orthostatic challenge, during the Valsalva maneuver and deep breathing. We included in our study the quantitative sudomotor axonal reflex, QSART. In the FRDA group, there were 11 men and mean age was 31.5 ± 11.1 years. Mean SCOPA-AUT score was 15.1 ± 8.1 . Analyses of the variability of RR intervals were all similar between patients and controls ($p > 0.05$), except for minimum RR intervals at rest, which were smaller in patients than controls (Median 649.5, IQR 98.0 x 724.0, IQR 98.0ms, $p < 0.001$). Sweat responses were significantly reduced in patients for all sites tested (forearm 0.389, IQR 0.783 x 1.309, IQR 0.842 μ L; proximal leg 0.406, IQR 1.050 x 1.107, IQR 1.011 μ L; distal leg 0.491, IQR 1.191 x 1.232, IQR 1.01 μ L; foot 0.265, IQR 0.763 x 0.708, IQR 0.416 μ L; p value < 0.05). Sweat volumes correlated with FARS scores. In the second part of the study (b), we scanned twenty-seven FRDA patients (mean age 26.6 ± 9.3 years, 15 female)- without full blown heart failure in a 3T device. T1 mapping was used to assess myocardial extracellular volume fraction (ECV) and intracellular lifetime of water (τ_{ic}), a measure of cardiomyocyte hypertrophy. FARS score was used to measure disease severity in FRDA. Ten healthy volunteers (mean age 34.9 ± 8.5 , 4 female) also underwent CMR for comparison. FRDA patients had significant increased LV mass-index (LVMASSi) compared to healthy controls (LVEF: $67\% \pm 11.5$ vs. 63.9 ± 9.0 , $P = \text{NS}$; LVMASSi 62.7 ± 23 vs. 45.1 ± 6.8 g/m², $p < 0.01$). Both ECV and intracellular lifetime of water (τ_{ic}) were notably higher in FRDA patients (ECV: 0.36 ± 0.05 vs. 0.25 ± 0.01 , $p < 0.0001$; τ_{ic} : 0.13 ± 0.07 vs. 0.06 ± 0.02 , $p = 0.001$). ECV demonstrated a negative association with left ventricular end diastolic index (LVEDV-index), $r = -0.5$, $P < 0.001$. τ_{ic} was negatively associated with FARS scores ($r = -0.55$, $P = 0.02$), FARS was positively associated with time since diagnosis/onset ($r = -0.68$, $P < 0.001$), suggesting that the

progression of FRDA in the heart may result in regression of cardiomyocyte hypertrophy. In conclusion, results of both studies reveal that (a) sudomotor, but not cardiovascular autonomic dysfunction is frequent in FRDA, and small cholinergic post-ganglionic nerve fibers are affected; and (b) patients with FRDA hypertrophic cardiomyopathy characterized by both cardiomyocyte hypertrophy and collagen deposition.

Key-words: Friedreich Ataxia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	32
3. SUJEITOS E MÉTODOS.....	33
4. RESULTADOS.....	44
5. DISCUSSÃO.....	80
6. CONCLUSÕES.....	85
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
8. ANEXOS.....	99

1. Introdução

1.1 Ataxia de Friedreich

Ataxia de Friedreich (AF) é a ataxia autossômica recessiva mais comum no mundo (1), e acredita-se que a prevalência seja de 1:50000 a 1:29000 (2). A expansão homozigótica de tripletos guanina-adenosina-adenosina (GAA) no primeiro intron do gene *FXN* do cromossomo 9q13 está presente na maioria dos pacientes (1,3,4). Apenas em 2 – 4 % dos casos, ocorre heterozigose e expansão GAA em um alelo com mutação de ponto ou deleção no outro (1).

A AF em geral inicia-se precocemente, geralmente até a segunda década de vida. Ocasionalmente a doença tem início após os 25 anos de idade. Nestes casos a expansão GAA tende a ser menor. Ocorre lenta e progressiva incapacidade de deambulação, associada a instabilidade e alargamento de base da marcha, com alteração da coordenação motora. Outros sinais frequentes: arreflexia global associada a sinais de liberação piramidal (como sinal de Babinski), dismetria, disartria, disfagia, tremores de extremidades, fraqueza muscular e redução da sensibilidade profunda. Pés cavus, escoliose, cardiopatia hipertrófica e diabetes mellitus também são muito frequentes (3, 5, 6).

1.2. Fisiopatologia da AF

A expansão de GAA causa um defeito de transcrição e, assim, leva à redução da Frataxina (1), uma proteína da matriz mitocondrial. Sabe-se que o número de expansões de GAA têm uma relação inversa com a idade no início dos sintomas e também com a gravidade da doença (7, 8, 9). Além das expansões de GAA, modificações epigenéticas podem contribuir para a variabilidade do início da doença e também sua progressão (10). Embora todas as suas funções não estejam ainda totalmente esclarecidas, a Frataxina participa do metabolismo de ferro na cadeia respiratória mitocondrial e da biossíntese de clusters de sulfeto ferroso (1). Esta proteína também parece interagir diretamente com

enzimas de complexos da cadeia respiratória, agir na manutenção da aconitase mitocondrial-cluster de sulfato ferroso e prevenir o estresse oxidativo. Assim, ela protege proteínas e DNA mitocondriais de lesão causada por radicais livres de ferro (Fe^{2+}) (5, 11). Deficiência de Frataxina resulta em múltiplos déficits enzimáticos, disfunção mitocondrial e dano oxidativo, culminando na morte celular (1, 5, 11).

A deficiência de Frataxina atinge diversos tecidos, incluindo coração, pâncreas e sistema nervoso periférico e central, contudo os tecidos apresentam vulnerabilidade diferente (1). Os gânglios da raiz dorsal e seus prolongamentos são as estruturas mais acometidas no sistema nervoso. Na AF, seus neurônios são menores que o normal e mais escassos (1). Ocorre também degeneração da coluna posterior da medula espinhal e dos tratos espinocerebelares; a medula espinhal apresenta diâmetro reduzido, especialmente na região torácica e cervical (1, 12). Koeppen et al (13) sugere que a concentração de ferro nos gânglios da raiz dorsal não está aumentada, mas há redistribuição de ferro e zinco; estes metais concentram-se de forma mais intracelular, tanto nos neurônios quanto em células satélites. A quantidade de ferritina mostrou-se diminuída nos neurônios, mas continuou elevada nas células satélites hiperplásicas. A quantidade de ferro estava reduzida e com distribuição irregular nos neurônios pequenos, mas mantida e até aumentada nas células satélites hiperplásicas, sugerindo uma “transferência de ferro e zinco” a partir dos neurônios degenerados para células satélites ativadas e que esta alteração do metabolismo de ferro está ligado à patogênese da lesão neste local (13).

Os núcleos profundos do cerebelo e suas vias eferentes, assim como os tratos córtico-espinhais, também sofrem degeneração, especialmente o núcleo denteado (NDC) (1, 12). No NDC, há alteração grave da “transferência de ferro” mitocondrial, evidenciada indiretamente por aumento na biossíntese de ferritina (1). Ocorre atrofia no NDC, grandes neurônios desaparecem, sendo encontrados apenas neurônios pequenos e há degeneração grumosa (1). Embora a quantidade total de ferro não esteja aumentada no NDC, análises histopatológicas evidenciaram que o ferro está redistribuído assim como descrito nos gânglios da raiz dorsal, sendo relocado como ferritina nos astrócitos e micróglia (14). Ocorre ainda uma redistribuição de zinco e cobre em conjunto com ferro (15).

No coração, observa-se cardiopatia hipertrófica, com aumento da espessura cardíaca, especialmente do ventrículo esquerdo e de septo interventricular. Há variação anormal do tamanho das fibras cardíacas. Contudo, estudos voltados para quantificar ferro demonstram que há poucas fibras com acúmulo de ferritina no interior da mitocôndria e os depósitos não são progressivos. A cardiomiopatia da AF está relacionada a uma transição natural de hipertrofia para dilatação. Neste último estágio, há substituição por tecido fibrótico levando à disfunção grave sistólica e diastólica (16,17,18). Insuficiência cardíaca congestiva e arritmias ventriculares são a principal causa de morte em cerca de 60% dos pacientes (16, 17, 19).

No pâncreas, não se observa destruição tecidual e a fisiopatologia do diabetes mellitus na AF é em grande parte desconhecida (1). Sabe-se, no entanto, que o diabetes mellitus nunca é a primeira manifestação da AF, ao contrário da cardiomiopatia. Comumente a hiperglicemia tem início após 15 anos da doença, e os pacientes que desenvolvem este distúrbio metabólico apresentam um início de doença mais precoce (20). O aumento da adiposidade corporal e da resistência à insulina são achados frequentes na AF, mas o desenvolvimento do diabetes mellitus parece depender mais da presença de disfunção e morte das células beta pancreáticas. A perda da função da frataxina na mitocôndria exerce papel importante nesse processo, pois a mitocôndria é essencial para a percepção de nutrientes e a geração de sinais que disparam e amplificam a secreção de insulina. Ocorre ainda um caminho intrínseco de apoptose, resultando na destruição da célula beta (20).

1.3. Evolução clínica e tratamento da AF

A AF apresenta uma evolução lenta e progressiva. Existe certa correlação entre a gravidade da doença e o tamanho da expansão de tripletos GAA, especialmente em relação ao menor alelo (21, 22). A idade do início da doença, assim como a presença de associação de comprometimento sistêmico, como cardiomiopatia e escoliose estão relacionados com a progressão dos sintomas motores e perda da independência nas atividades de vida diária (22).

Não existem tratamentos efetivos para AF atualmente. O tratamento clínico baseia-se na fisioterapia motora e, quando necessária, respiratória, além da identificação e atuação nas comorbidades, primordialmente da cardiopatia hipertrófica, distúrbios da função pulmonar, escoliose e diabetes mellitus.

A seguir serão descritas medicações estudadas para o tratamento da doença.

Moléculas com ação antioxidante, como Coenzima Q10 e Vitamina E foram utilizadas em ensaios clínicos para tratamento da AF, porém sua eficácia ainda é incerta (23, 24, 25).

Diversos estudos avaliaram o uso de Idebenona, outra molécula antioxidante, porém os resultados mostraram-se inconclusivos até o momento. Di Prospero (26) recrutou 48 pacientes pediátricos e os seguiu por 6 meses, porém não houve melhora significativa da ataxia nos grupos tratados. Entretanto, se considerados somente os pacientes não-cadeirantes, houve melhora significativa nos escores clínicos e este resultado foi mais expressivo naqueles em uso de dose mais elevada (26). De acordo com Lynch et al (27), não houve benefício em relação ao status neurológico com uso de Idebenona em pacientes com AF ao final do *follow-up* de 6 meses. Estes pacientes também foram avaliados do ponto de vista cardiológico e não apresentaram melhora significativa na espessura de ventrículo esquerdo nem de função cardíaca (28). Posteriormente, a mesma coorte de pacientes foi seguida por 12 meses, em um estudo *open-label*, e com Idebenona na dose ajustada entre 1350 a 2250 mg/dia. Utilizando-se os dados do seguimento de 12 meses, não foi observada melhora significativa nos escores de gravidade da ataxia. Contudo, os autores observaram que houve melhora em algumas subescalas. Ao analisar o estudo original com sua extensão, avaliando os pacientes por 18 meses, melhora clínica significativa foi evidenciada, especialmente no grupo de fez uso de Idebenona em sua maior dosagem desde o início. Os autores sugerem que altas doses de Idebenona podem oferecer benefício terapêutico na população pediátrica (29).

Outro antioxidante foi estudado em AF, o resveratrol, um fenol natural que aumentou a expressão do gene *FXN* em modelos animais de AF (30). Esse estudo avaliou os efeitos de resveratrol

em duas doses (1g e 5g por dia) em relação aos níveis de frataxina em células mononucleares de sangue periférico (CMSP) em 24 pacientes por 12 semanas. Não houve aumento dos níveis de frataxina em CMSP ao final do estudo, porém houve uma redução de 3.4 pontos no escore FARS (31) em pacientes usando altas doses de resveratrol (32).

O melhor conhecimento da fisiopatologia da AF, por sua vez, possibilitou desenvolvimento de novas intervenções terapêuticas (5). Estudos *in vitro* sugeriram que a Eritropoetina é capaz de aumentar a expressão de Frataxina em linfócitos de pacientes com AF (33, 34). Os estudos clínicos com Eritropoetina recombinante humana apresentam resultados contraditórios. Boesch et al (35) demonstrou certo benefício na escala clínica após 6 meses da medicação em maior dose. Outros autores relataram o mesmo efeito na avaliação clínica, utilizando diferente protocolo (36). Outros estudos, entretanto, não demonstraram benefício (37, 38).

Estudos com quelantes de ferro também foram realizados. Boddaert et al (39) seguiu 13 pacientes em uso de Deferiprone por 6 meses e avaliados através de escala clínica e ressonância magnética. Foi realizada relaxometria (R2*) para quantificar ferro em DNC. Os autores evidenciaram um discreto efeito, mas significativo, da relaxometria de pacientes, mostrando que houve uma redução na quantidade de ferro, contudo não houve alteração na escala clínica (39). Outro estudo avaliou terapia combinada de Deferiprone e Idebenona por 11 meses em um grupo de 20 pacientes. Estes autores também observaram uma redução na relaxometria (R2*), porém sem alterações significativas quanto à escala clínica, exceto em alguns subtestes (40).

Fatores neurotróficos, como insulina/fator de crescimento 1 insulina-like (IGF-1) estão sendo estudados em doenças neurodegenerativas, inclusive AF, dadas suas qualidades neuroprotetoras das células de Purkinje. Sanz-Gallego et al (41) estudaram 5 pacientes com função ventricular normal por 12 meses, utilizando terapia de IGF-1. A piora da escala clínica SARA - Scale for the Assessment and Rating of Ataxia, (42) foi menor anualmente em relação ao grupo controle, sem alterações

ecocardiográficas. No entanto, ressalta-se a limitação desse estudo relacionada à pequena amostra utilizada.

Dois agentes que aumentam a expressão da frataxina foram estudados, porém sem benefício clínico demonstrado, os inibidores da deacetilase de histonas (DACH), como a nicotinamida (vitamina B3), e o interferon gama 1b (43, 44).

Um relato de dois casos demonstrou melhora clínica de pacientes com AF com altas doses de tiamina, porém há necessidade de estudos confirmatórios, dada a pequena amostra (45).

Diante deste cenário, em que há muitos ensaios clínicos para teste de mediações, o desenvolvimento de marcadores de evolução para AF é tarefa fundamental. A realização destes ensaios é um grande desafio, pois a evolução da AF é lenta e não há outros parâmetros de evolução da doença além da avaliação clínica (46). As escalas clínicas desenvolvidas para AF, como ICARS e FARS, são efetivas para mensurar a progressão da doença e sua gravidade (47). Entretanto, estas escalas podem apresentar uma medida não-linear ao longo do tempo, além de vieses relacionados ao paciente e ao examinador. Além disso, para avaliação com maior confiabilidade, é necessário observar os pacientes clinicamente por longos períodos (sugere-se 2 anos de seguimento) e isto dificulta a realização de testes de novos tratamentos (47).

1.4. Sintomas não-motores na AF

A importância dos sintomas não-motores tem sido reconhecida em várias doenças neurodegenerativas, como Ataxia Espinocerebelar e Doença de Parkinson, incluindo disfunção autonômica e cardiovascular.

Reetz et al (48) realizou um estudo com 650 pacientes, utilizando dados do Consórcio Europeu de Ataxia de Friedreich para estudos translacionais, para descrever os principais sintomas não atáxicos em AF. Evidenciou-se que os principais sintomas são alterações dos movimentos oculares (90.5%), escoliose (73.5%), deformidades dos pés (58.8%), disfunção urinária (42.8%), cardiomiopatia e

hipertrofia cardíaca (40.3%), baixa acuidade visual (36.8%), depressão (14.1%) e diabetes (7.1%). Estes sintomas são mais frequentes quando a doença tem início típico. O tamanho da repetição GAA no menor alelo apresenta valor preditivo em relação à idade de início, gravidade da ataxia, sexo e presença de problemas neonatais (48).

A função autonômica, no entanto, ainda é pouco conhecida na doença. Há poucos estudos, com pequenas amostras acerca desse sintoma não motor.

A cardiomiopatia da AF é bem documentada; classicamente, há hipertrofia do ventrículo esquerdo concêntrica ou assimétrica (menos frequente) (49, 50, 51). Insuficiência cardíaca, associada a arritmia ventricular é a principal causa de morte (59%), de acordo com Tsou et al (16). Diante desse cenário, investigar a fisiopatogenia da cardiomiopatia e inclusive desenvolver um marcador de evolução que possa ser utilizado em pesquisas clínicas torna-se tarefa primordial.

1.5 O sistema nervoso autonômico

O sistema nervoso autônomo é uma rede neural complexa que mantém a homeostase fisiológica interna, especialmente cardiovascular, termorregulatória, gastrointestinal, geniturinária, exócrina e pupilar (52).

O sistema nervoso autônomo divide-se em dois componentes com funções opostas, mas complementares, o simpático e o parassimpático. O sistema nervoso simpático tem origem nas regiões tóraco-lombares da medula espinal e faz sinapse nos gânglios pré-vertebrais e paravertebrais. As fibras pré-ganglionares são mielinizadas, relativamente curtas e colinérgicas. Já as fibras pós-ganglionares não são mielinizadas, são longas e primariamente adrenérgicas, exceto pela inervação das glândulas sudoríparas (colinérgicas). O sistema nervoso parassimpático acompanha os nervos cranianos: terceiro, sétimo, nono e décimo, além das raízes espinais sacrais. Os axônios pré-

ganglionares são mielinizados e têm longas projeções periféricas que fazem sinapse em gânglios localizados próximo aos órgãos-alvo. Já os axônios pós-ganglionares são curtos e colinérgicos (52).

A condução aferente se origina em receptores nas vísceras e levam estímulos ao longo de nervos somáticos e autonômicos para dar início a reflexos locais, segmentares ou rostrais. O controle e a regulação da função autonômica são realizados no sistema nervoso central, onde o hipotálamo tem papel fundamental.

As funções do sistema nervoso simpático e parassimpático em diferentes órgãos e sistemas estão descritas na tabela abaixo.

Tabela 1. Funções do Simpático e do Parassimpático em Alguns órgãos e sistemas

Órgão	Simpático	Parassimpático
Íris	Midríase	Miose
Glândula lacrimal	Vasoconstrição	Secreção abundante
Glândulas salivares	Vasoconstrição, secreção viscosa	Vasodilatação, secreção fluida e abundante
Glândulas sudoríparas	Secreção copiosa	Inervação ausente
Músculos eretores dos pelos	Ereção dos pelos	Inervação ausente
Coração	Taquicardia, dilatação coronariana	Bradicardia, constrição coronariana
Brônquios	Dilatação	Constrição
Tubo digestivo	Redução do peristaltismo, fechamento de esfíncteres	Aumento do peristaltismo, abertura de esfíncteres
Bexiga	Pouca ou nenhuma ação	Contração da parede
Genitais masculinos	Vasoconstrição, ejaculação	Vasodilatação, ereção
Glândula supra-renal	Secreção de adrenalina	Nenhuma ação
Vasos sanguíneos do tronco e extremidades	Vasoconstrição	Nenhuma ação

O comprometimento autonômico é frequente em certas doenças neurológicas e pode se expressar, por exemplo, através de alterações da motilidade gastrointestinal, incontinência urinária, hipotensão ortostática, arritmias cardíacas, xeroftalmia e xerostomia; muitas dessas manifestações são passíveis de tratamento específico (53, 54, 55). Portanto, reconhecer as manifestações autonômicas e tratá-las poderia melhorar significativamente a qualidade de vida de muitos desses pacientes.

A disfunção autonômica, além disso, tem implicações prognósticas. No diabetes mellitus, a presença de disautonomia cardiovascular está associada a uma taxa de mortalidade 2 vezes maior ao final de 5 anos (54). O substrato anatômico das disautonomias neurológicas encontra-se no dano aos nervos periféricos (fibras autonômicas) e/ou os centros encefálicos de controle, incluindo os gânglios da base e o hipotálamo (53, 54, 55).

1.6 Alterações autonômicas na AF

Disfunção autonômica ocorre em várias doenças neurodegenerativas, inclusive em algumas ataxias hereditárias (56, 57, 58, 59, 60). Apesar disso, há pouco estudos em AF, todos com pequenas amostras e análises restritas a parâmetros cardiovagais (61, 62). Além disso, a maioria deles foi publicada antes da mutação causal da AF ser identificada, o que gera dúvidas acerca da acurácia diagnóstica (50). Recentemente, Indelicato et al (63) observou proeminentes sintomas disautonômicos, especialmente nos campos termoregulatório, urinário e sudomotor, porém não evidenciou significativas alterações no estudo da variabilidade da frequência cardíaca, ou da resposta simpática cutânea. Esta, no entanto, só foi realizada em 10 pacientes. Assim, a função sudomotora não foi avaliada adequadamente em AF e, portanto, fica pouco clara a real frequência e relevância clínica da função autonômica nessa doença.

Diante desse cenário, julgamos que a execução de um estudo sistemático de alterações autonômicas na AF pode trazer benefícios tanto diretos, em relação ao plano de tratamento, quanto indiretos, ao permitir uma melhor compreensão de diversos aspectos fisiopatológicos.

1.7. Investigação neurofisiológica da função autonômica

Existem diversos testes que avaliam a função autonômica, sendo que estes podem ser divididos em domínios; os testes que avaliam a função sudomotora e os testes que avaliam a função do controle cardíaco.

Testes que avaliam a função sudomotora

O principal deles é o QSART, ou teste quantitativo do reflexo axonal sudomotor, onde é realizada uma injeção intradérmica de acetilcolina. Esta ativa os receptores muscarínicos e então a produção de suor é medida através de um equipamento denominado sudorômetro (64). Os locais padronizados para o teste são o antebraço, região proximal da perna, região distal da perna e dorso do pé (Figura 1). A cápsula, ou sudorômetro, é colocada na pele e o anel externo é preenchido com 10% de acetilcolina. Internamente há gás nitrogênio fluindo através da pele e o escoamento da umidade é medido por um higrômetro. Quando uma linha de base estável é atingida, inicia-se a iontoforese de acetilcolina a 2mA por 5 minutos. A humidade é continuamente medida desde a linha de base até 15 minutos após o estímulo. O débito da produção de suor é medido através da mudança de umidade. Os resultados são analisados através da área sob a curva, produção máxima de suor e latência de início do suor (65).



Figura 1. Técnica para realização do QSART

Outra técnica que avalia a função sudomotora é o teste termoregulatório de suor (TST). Neste teste, é aplicado um pó indicador sobre o corpo do paciente, como alizarina vermelha misturada com amido de milho e carbonato de sódio. O paciente é então colocado em ambiente aquecido, e o pó indicador adquire uma outra cor (a alizarina vermelha é laranja quando seca e torna-se roxa quando úmida), sendo então checado o padrão da mudança de cor e aferida a área corpórea com sudorese (65).

Testes que avaliam a função do controle cardíaco

Um teste muito utilizado na prática clínica é o “Tilt - table”, ou teste da inclinação, em que o indivíduo é posicionado sobre uma prancha com inclinação de 60 a 80° após um período de repouso em posição supina, sendo monitorizado o eletrocardiograma e a pressão arterial continuamente (65).

É possível também utilizar estudo de imagem cardíaca por radionuclídeo. Neste teste, o paciente recebe um análogo inativo da noradrenalina, o MIBG (meta - iodo - benzilguanidina), marcado com iodo 123. Ele irá competir com a noradrenalina no terminal nervoso simpático pós-ganglionar, sendo então realizada a quantificação da captação cardíaca através do cálculo da razão H/M (66).

Utiliza-se também o estudo da variabilidade do intervalo RR. Este depende do controle parassimpático e simpático sobre os nodos cardíacos, incluindo regulação autonômica central e também periférica (60). Consiste em medir de forma bastante precisa os intervalos entre complexos QRS sucessivos (em ms) de um eletrocardiograma prolongado, determinando sua variabilidade ao longo do tempo. É um método simples, não invasivo, reproduzível, barato, e permite avaliar a regulação autonômica cardiovascular. Pode ser acessada pelo cálculo de índices baseados na análise estatística de intervalos RR (análise da função tempo) ou por análise espectral (análise da função frequência) (53). O intervalo RR pode ser estudado durante o repouso por 5 minutos, durante a respiração profunda cíclica, além do estudo na posição supina (razão 30:15) e durante a manobra de Valsalva (64, 67).

A análise espectral avalia uma decomposição de séries de intervalos RR sequenciais em uma soma de funções sinusoidais de diferentes amplitudes e frequências através de abordagens matemáticas, como a transformação rápida de Fourier (FFT). O resultado, chamado poder espectral, mostra a magnitude da variabilidade da função de frequência, ou seja, reflete a amplitude das flutuações da frequência cardíaca presentes em diferentes frequências oscilatórias. O poder espectral apresenta três importantes picos: o componente de muito baixa frequência (VLF, abaixo de 0,04Hz), que está relacionado a flutuações no tônus vasomotor associado a termorregulação; o componente de baixa frequência (LF, cerca de 0,01Hz), relacionado ao reflexo barorreceptor; e o componente de alta frequência (HF, cerca de 0,25Hz), que se associa a atividade respiratória. Acredita-se que o VLF é

mediado primariamente pelo sistema simpático, o LF predominantemente encontra-se sob controle simpático com modulação vagal, enquanto o HF está sob controle parassimpático (68).

Nos últimos anos, este tipo de investigação vem sendo empregada para avaliar alterações autonômicas em numerosas doenças neurodegenerativas, inclusive algumas ataxias hereditárias (56, 57, 58, 59, 60, 69).

1.8. A cardiomiopatia na AF

Cerca de 40% dos pacientes com AF apresentam cardiomiopatia associada (48). Sabe-se que a deficiência de clusters de sulfeto ferroso e a dificuldade na geração de energia são os principais mecanismos patogênicos relacionados à cardiomiopatia. A deposição de ferro no cardiomiócito frequentemente acompanha hipertrofia do miocárdio na AF, sugerindo a toxicidade do ferro na lesão tecidual oxidativa (70). Ainda, o aumento da sensibilidade ao estresse oxidativo e a alteração do metabolismo lipídico parece contribuir para a progressão da doença cardíaca na AF (71, 72).

A cardiomiopatia na AF é hipertrófica, mantendo a função sistólica preservada, até pouco antes da morte (73). A hipertrofia decorre de uma intensa proliferação das mitocôndrias dos cardiomiócitos, e uma perda das fibras contráteis (70, 74). No entanto, apesar da massa mitocondrial estar aumentada, a geração de energia no coração encontra-se reduzida (75). A mitocôndria pode não metabolizar ácidos graxos corretamente, sendo mais dependente dos estoques de glicogênio e glicose. Pacientes com AF apresentam ainda um índice de reserva de perfusão miocárdica alterado, até mesmo antes do início da cardiomiopatia, associado a doença microvascular e fibrose (76), podendo apresentar dor torácica e sintomas de redução da reserva coronariana na ausência de doença coronariana epicárdica (77).

Arritmias são comuns nos pacientes com AF, em especial arritmias ventriculares, e contribuem para a mortalidade (16). Cerca de 90% dos pacientes têm alteração no eletrocardiograma,

demonstrando com frequência alterações da onda T, como inversão ou achatamento, em derivações torácicas esquerdas. Ainda, o volume ventricular é reduzido e há disfunção diastólica (51, 78).

Apesar da frequência e da gravidade da cardiomiopatia na AF, sendo a principal causa de morte nesses pacientes, ainda há poucos estudos referentes a essa alteração, sendo que há ainda um grande desafio no que se refere à prevenção e tratamento do dano cardíaco.

1.9. Investigação por imagem da cardiomiopatia relacionada à AF

Ecocardiografia vem sendo técnica de escolha para a avaliação e seguimento das alterações cardíacas na AF. Apesar disso, a ressonância magnética cardíaca (RMC) vem ganhando espaço e parece ser tanto sensível quanto acurada para a determinação da gravidade do remodelamento cardíaco nos pacientes com AF (79).

No intuito de detectar-se o envolvimento cardíaco na doença, o ecocardiograma deve avaliar precisamente a extensão da hipertrofia ventricular esquerda, sendo que a análise da espessura da parede do ventrículo esquerdo (VE) ao final da diástole é o melhor parâmetro conhecido (18).

Já a RMC é uma técnica muito importante na avaliação da cardiopatia na AF, sendo capaz de avaliar a gravidade do remodelamento do VE (80, 81) e estratificar a contribuição relativa da hipertrofia e da fibrose. Este último aspecto é feito a partir do mapeamento de T1 do miocárdio, que permite a determinação de parâmetros quantitativos ligados diretamente à fração do volume extracelular (VEC) e ao tamanho do cardiomiócito (82,83,84). Esses novos biomarcadores, em especial o VEC e o tempo de vida intracelular da água (τ_{ic}), uma medida relacionada ao tamanho do cardiomiócito, ainda não foram estudados detalhadamente em AF.

Ressonância Magnética Cardíaca

A técnica do realce tardio (RT) após injeção de gadolínio-DTPA pela ressonância magnética cardíaca (RMC) tornou-se o método de escolha para detecção de necrose e fibrose miocárdica com alta resolução (80,85,86). O realce tardio baseia-se na identificação de áreas focais e densas de realce em relação às áreas normais do miocárdio. Isto ocorre por que em áreas fibróticas do miocárdio, o meio de contraste tende a ter captação aumentada. Em certas condições clínicas, como na cardiopatia isquêmica e na cardiopatia dilatada não isquêmica, a presença de fibrose foi comprovada como um marcador do remodelamento ventricular (87,88). Sabe-se que o RT pode estar ausente ou apenas identificar uma quantificação parcial da extensão do comprometimento miocárdico. Isto é particularmente verdade em condições em que a lesão cardíaca é difusa, como por exemplo no caso da cardiopatia hipertensiva. A presença de fibrose intersticial é um fator de risco independente para insuficiência cardíaca (89) e morte súbita (90).

Até pouco tempo, nenhum método de imagem não-invasivo, incluindo o RT pela RMC, era capaz de detectar fibrose intersticial de forma precisa, especialmente em doenças difusas do miocárdio. Recentemente, foi descrita técnica baseada na determinação da distribuição relativa do volume de gadolínio injetado e nas mudanças do sinal T1 do miocárdio para quantificar o volume extracelular do miocárdio; este seria o marcador de fibrose e remodelamento (91). Como o tecido fibrótico é o principal constituinte do espaço intersticial, foi utilizado o termo “índice de fibrose” se referindo à fração do volume da matriz extracelular (VEC). Demonstrou-se que, através da medida do coeficiente de partição do gadolínio no miocárdio (λ_{GD} -fórmula 1), era possível estimar precisamente o VEC e determinar o “índice de fibrose” como um marcador objetivo de remodelamento cardíaco (91). O “índice de fibrose” é uma medida contínua e quantitativa do remodelamento extracelular, partindo do miocárdio normal, passando pelo miocárdio com fibrose intersticial, indo até fibrose difusa extensa com miocárdio não viável e cicatriz (Figura 2).

O “índice de fibrose” é derivado do coeficiente de partição do gadolínio no miocárdio, corrigido para a concentração do gadolínio no sangue com a medida do hematócrito. Como o colágeno é o constituinte sólido predominante do VEC, o valor do coeficiente de partição se correlacionou muito bem com o volume de colágeno pela biópsia cardíaca (92). Assim, o “índice de fibrose” parece ser um marcador extremamente sensível e potencialmente precoce, com possíveis aplicações em qualquer cardiomiopatia que envolva aumento da VEC.

Diante dos altos custos e aos riscos de complicação da biópsia cardíaca, a determinação da VEC parece ser uma excelente alternativa, não-invasiva, para quantificar-se o grau de remodelamento cardíaco.

A. O ESPECTRO DA FIBROSE MIOCÁRDICA



B. O REALCE TARDIO



C. O ÍNDICE DE FIBROSE DO MIOCÁRDIO

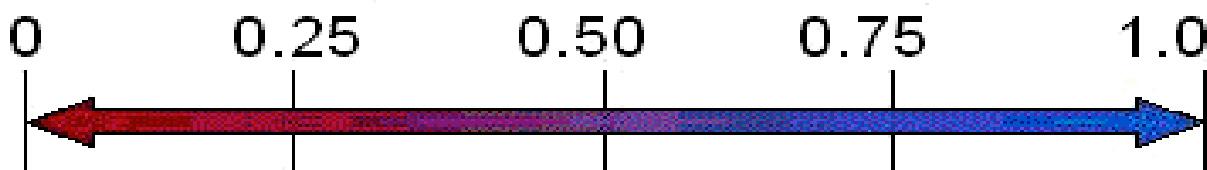


Figura 2: Espectro da fibrose miocárdica. O coeficiente de partição do gadolínio-DTPA (λ_{Gd}), no miocárdio em combinação com o hematócrito sanguíneo fornece a medida continua da fração do volume extracelular, ou “índice de fibrose” (C). O realce tardio (B) é capaz de detectar apenas áreas com fibrose densa, enquanto que o “índice da fibrose” consegue identificar um amplo espectro da fibrose miocárdica (A) (93).

Quantificação da Medida do Coeficiente de Partição do Gadolínio

Define-se um coeficiente de partição para um traçador no miocárdio como a razão da concentração do referido traçador no tecido e no sangue em equilíbrio. Em equilíbrio, a concentração de um contraste extracelular, como é o caso do gadolínio, no espaço intersticial deve ser igual à concentração desse contraste no sangue.

Em termos de volumes específicos (volume normalizado pelo peso do tecido, expresso em ml/g) do interstício (V_{inters}) e do plasma (V_{plasma}), pode-se expressar o coeficiente de partição para um traçador ou contraste extracelular como:

$$\lambda = (V_{inters} + V_{plasma}) / (1 - Hct)$$

Onde Hct é o hematócrito do sangue. Os contrastes utilizados em ressonância magnética usualmente reduzem o T1. Assim, o coeficiente de partição do gadolínio no miocárdio pode ser calculado a partir da razão entre mudanças de R1 ($R1 = 1/T1$) no tecido sobre a mudança de R1 no sangue. Várias estratégias já foram propostas para a medida do coeficiente de partição do gadolínio no miocárdio pela RMC, sendo que a maioria desses estudos foram realizados em voluntários sem cardiopatia (94), ou em pacientes com cardiopatia isquêmica (95).

Recentemente ficou comprovado ser possível a medida do coeficiente de partição do gadolínio no miocárdio após única administração de contraste paramagnético extracelular (0.2 mmol por peso em Kg), através da aquisição combinada de imagens ponderadas em T1, com mensuração das mudanças na intensidade de sinal cerca de 30 minutos após a injeção do contraste (95).

O tempo de vida intracelular da água (τ_{ic})

Sabe-se que os cardiomiócitos são células alongadas, próximas da forma cilíndrica (96, 97). Define-se o tempo de vida intracelular das moléculas de água (τ_{ic}) como o tempo médio para as moléculas de água atravessarem as membranas celulares (Figura 3). É sabido que moléculas de água atravessam livremente a membrana celular entre o espaço intersticial (extracelular) e o espaço intracelular, sendo que o tempo médio de vida da água intracelular é o tempo de difusão para atingir a membrana celular.

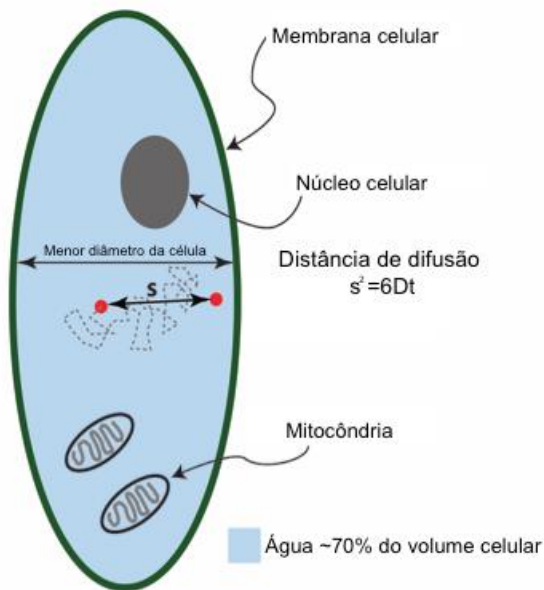


Figura 3: Tempo de vida intracelular das moléculas de água. O tempo de difusão (t) se relaciona com a distância de difusão (s) e o coeficiente de difusão intracelular do plasma (D).

A medida do τ_{ic} relaciona-se diretamente com o tamanho e o volume das células (97). Pela equação da difusão de Einstein (98), temos que S é a distância de difusão, D é o coeficiente de difusão intracelular do plasma e t é o tempo de difusão: $S^2 = 6 D \times t$ (2)

O τ_{ic} teoricamente muda linearmente com a relação volume para superfície. Para uma célula alongada, quase cilíndrica, o τ_{ic} é em uma primeira aproximação o diâmetro menor da célula. De acordo com Landis et al (97), no miocárdio, a determinação do tempo T1 após a administração de um contraste extracelular como o gadolínio-DTPA pode ser usada para investigar o τ_{ic} .

Esses novos e validados biomarcadores, ainda não foram estudados na cardiopatia da AF, sendo, portanto muito importante realizar esse estudo, que propicia uma avaliação do fenótipo da cardiomiopatia através de método de imagem por RMC.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral:

Caracterizar as manifestações autonômicas e a cardiomiopatia na AF.

2.2 Objetivos específicos:

1. Determinar a frequência e intensidade das manifestações autonômicas na AF.
2. Determinar se existe correlação entre as manifestações autonômicas e parâmetros clínicos (gravidade da ataxia, idade de início, duração da doença e sexo).
3. Determinar o fenótipo da cardiomiopatia na AF.
4. Determinar se existe correlação entre o fenótipo da cardiomiopatia e parâmetros clínicos (gravidade da ataxia, idade de início, duração da doença e sexo).

3. Sujeitos e Métodos

Essa sessão será dividida em 2 estudos: o primeiro relacionado ao estudo da função autonômica e o segundo relacionado à avaliação por ressonância magnética cardíaca na AF.

Estudo 1: Função autonômica na Ataxia de Friedreich

Seleção dos pacientes

Foram selecionados 28 pacientes adultos (maiores que 18 anos) e sintomáticos regularmente acompanhados nos ambulatórios de Neurogenética do HC-UNICAMP com AF confirmada mediante teste molecular. Estes indivíduos foram recrutados entre agosto de 2015 e setembro de 2017.

Critérios de exclusão:

1. Portadores de ataxia de Friedreich sem confirmação molecular.
2. Portadores de doenças e antecedentes que sabidamente interferem com a função autonômica: diabetes mellitus, arritmia cardíaca, doença pulmonar obstrutiva crônica, etilismo e simpatectomia prévia.
3. Usuários de medicamentos que sabidamente interferem com a função autonômica: beta e alfa bloqueadores, beta agonistas, antidepressivos tricíclicos, alfa-metildopa, anti-histamínicos, diuréticos e fludrocortisona.

Seleção dos controles

Foi constituído um grupo de 24 controles saudáveis com distribuição de idade e sexo semelhante aos pacientes com AF. Estes indivíduos foram recrutados entre os estudantes da Universidade de Campinas e também voluntários da comunidade local.

Para este grupo, os critérios de inclusão foram:

- Idade maior que 18 anos
- Histórico familiar negativo para ataxias e/ou neuropatias hereditárias
- Ausência de sintomatologia neurológica
- Exame clínico-neurológico normal

Os critérios de exclusão foram os mesmos estabelecidos nos itens 2 e 3 referentes à seleção dos pacientes.

Comitê de Ética em Pesquisa

O Comitê de ética em pesquisa da Unicamp aprovou o protocolo para os pacientes com AF, e todos os pacientes e participantes assinaram termo de consentimento informado (Anexo 1).

Avaliação clínica

Os pacientes foram submetidos a uma avaliação clínica, com anamnese dirigida e exame físico neurológico. A gravidade da ataxia e dos sintomas autonômicos foi quantificada com o emprego das versões adaptadas e validadas para o português das escalas Friedreich's ataxia rating scale (FARS, 31) e Scales for Outcomes in Parkinson's Disease – Autonomic Questionnaire (SCOPA – AUT,99). Estas escalas encontram-se disponíveis para visualização no Anexo (Protocolo de estudo).

O exame físico dirigido ao sistema nervoso autonômico incluiu avaliação da pressão arterial e frequência cardíaca nas posições supina e ortostática (3 minutos após ortostase).

Estudo da variabilidade da frequência cardíaca

Procedimento

Os exames foram realizados no período da manhã, os pacientes foram orientados a não fazer uso de álcool, cafeína, nicotina ou outras medicações com ação autonômica nas 12 horas precedentes. Os testes de função autonômica foram realizados em uma sala silenciosa, com temperatura ambiente entre 23 a 26° C. A temperatura dos membros também foi controlada, sendo realizado aquecimento externo quando necessário. Os pacientes permaneceram relaxados e em posição supina por no mínimo 5 minutos antes do início da avaliação.

O estudo da variabilidade da frequência cardíaca foi realizado a partir de uma derivação D2 do ECG convencional segundo os protocolos do pacote autonômico WR TestWorks Q-Sweat System. Os complexos QRS foram registrados sucessivamente de modo a permitir a quantificação exata (em ms) do intervalo entre dois complexos consecutivos (intervalo RR). Antes de proceder à análise dos dados, os intervalos RR foram visualmente inspecionados no intuito de excluir-se a presença de artefatos que pudessem afetar os resultados.

O intervalo RR foi estudado: 1. Durante o repouso por 5 minutos; 2. Em pé por 3 minutos; 3. Durante e após a manobra de Valsalva; e 4. Durante a respiração profunda.

Para a aquisição dos intervalos RR durante o repouso, foi solicitado aos pacientes que respirassem normalmente. O teste teve a duração de 5 minutos e foram obtidos ao menos 300 intervalos RR.

A manobra de Valsalva foi realizada com o paciente em posição supina, cabeça elevada em 30°. Eles foram orientados a assoprar em um bocal conectado a um manômetro, com uma pressão de 40 mmHg por 15 segundos. Em seguida foi realizada a monitorização eletrocardiográfica durante a

manobra e 45 segundos após o esforço. A manobra foi realizada 3 vezes, sendo escolhido o maior índice de Valsalva para análise, pois este representa o melhor desempenho da função autonômica (65).

Para a obtenção dos intervalos RR durante a respiração profunda, os pacientes ficaram em posição supina, com a cabeça elevada em 30°. Foram solicitados a respirar profundamente na frequência de 6 respirações por minuto.

Análises referentes ao domínio tempo

A partir dos dados eletrocardiográficos adquiridos durante o desafio ortostático, manobra de Valsalva e respiração profunda, foram determinados os parâmetros indicativos da variabilidade da frequência cardíaca estabelecidos por Ewing et al (54):

1. Razão 30:15 - calculada como o maior intervalo RR que ocorre ao redor do 30º batimento após o indivíduo ter ficado em pé dividido pelo menor intervalo RR ao redor do 15º batimento após ter ficado em pé.
2. Índice de Valsalva - obtido como a razão do maior intervalo RR logo após a manobra de Valsalva pelo menor intervalo RR durante a manobra.
3. Razão E:I - calculada através da soma dos seis maiores intervalos RR de cada ciclo respiratório, dividido pela soma dos seis menores intervalos RR.

Além desses, foram determinados os seguintes parâmetros referentes à variabilidade da frequência cardíaca durante o repouso: média dos intervalos RR, desvio padrão (DP), RR50 (número de intervalos RR consecutivos que diferem do intervalo RR adjacente por 50 ms ou mais) e CV (coeficiente de variação do intervalo RR, representado pela fórmula: $CV = DP / \text{média dos intervalos RR} \times 100$) (60, 100).

Análises referentes ao domínio frequência (padrão espectral)

A análise espectral foi realizada utilizando-se o protocolo autonômico QP954BK do equipamento de eletroneuromiografia Nihon Kohden MEB9200J. A partir dos intervalos RR coletados ao longo de um período de 5 minutos em repouso, foi utilizado o algoritmo da transformação rápida de Fourier (FFT) para converter os dados temporais (em ms) dos intervalos RR sucessivos em dados de frequência (em Hz) (101) (Figura 4). Para fins de análise, foi determinado o poder espectral da curva de cada um dos indivíduos nas faixas de baixa (LF: 0,04-0,15 Hz) e alta frequência (HF: 0,15-0,50 Hz). Além disso, calculou-se também a razão entre o poder dos componentes LF e HF (razão LF/HF).

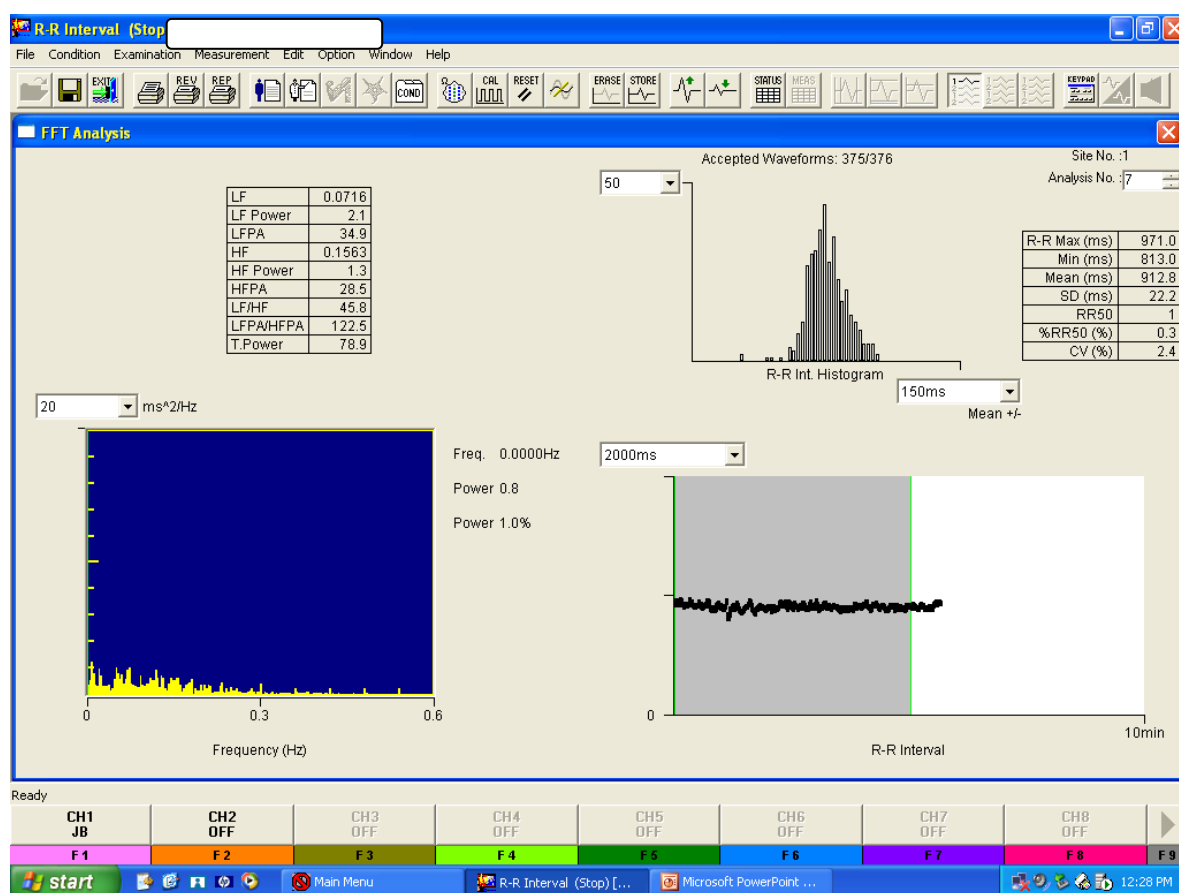


Figura 4. Análise espectral do intervalo RR em repouso de indivíduo normal.

Classificação dos pacientes quanto à presença ou ausência de disautonomia

O grupo dos pacientes portadores da AF foi analisado e classificado em dois grupos: com e sem disautonomia cardiovascular. Esta classificação foi feita baseada nos critérios de Ewing modificados (54), descritos na tabela a seguir.

Tabela 2. Critérios de Ewing para definição de disautonomia cardiovascular (54).

	Normal	Limítrofe	Anormal
Razão E:I	$\geq 1,21$	1,20-1,06	$\leq 1,05$
Índice de Valsalva	$\geq 1,21$	1,11-1,20	$\leq 1,10$
Razão 30:15	$\geq 1,04$	1,01-1,03	$\leq 1,00$
Resposta da PAS ao levantar-se	≤ 10	11-29	≥ 30

PAS: Pressão arterial sistólica.

Pacientes que apresentaram pelo menos 2 dos parâmetros acima anormais foram considerados portadores de disautonomia cardiovascular (54).

Análise estatística

Os dados clínicos, demográficos, genéticos e neurofisiológicos foram tabulados e expressos utilizando-se estatística descritiva, tabelas e gráficos. Foi utilizado o teste de Mann-Whitney para comparar os dados clínicos e neurofisiológicos entre os pacientes e os controles saudáveis. O mesmo teste foi utilizado para comparar os pacientes portadores de AF com e sem disautonomia. As comparações de proporções entre grupos foram realizadas com o teste exato de Fisher. As análises de correlação entre o escore SCOPA-AUT e os parâmetros clínicos/genéticos foram feitas através de

regressão linear de múltiplas variáveis. Em todas as análises, foi considerado o nível de significância de 5%. A análise estatística foi realizada no software SYSTAT 10.2.

Estudo 2: Avaliação por ressonância magnética cardíaca em AF.

Seleção dos pacientes

Vinte e seis pacientes em seguimento regular no ambulatório de Neurogenética da Unicamp com confirmação molecular de AF foram recrutados entre 2014 e 2016. Todos os pacientes eram homozigotos para expansões de GAA em *FXN*.

Seleção dos controles

Dez voluntários foram recrutados como população controle. Estes foram prospectivamente selecionados sob um protocolo aprovado pelo comitê de ética institucional do Brigham and Women's Hospital (Boston, USA) e já reportados previamente (102,103).

Comitê de Ética em Pesquisa

O Comitê de ética em pesquisa da Unicamp aprovou o protocolo para os pacientes com AF, e todos os pacientes e participantes assinaram termo de consentimento informado (Anexo 2).

Avaliação clínica

Cada paciente com AF foi avaliado em relação à idade no início da doença e presença de sintomas neurológicos e cardiovasculares. Foram submetidos a exame físico clínico e neurológico, sendo que a escala FARS (31) foi utilizada para quantificar a função neurológica. Dados antropométricos padronizados também foram obtidos (peso, altura e IMC).

Avaliação laboratorial

No dia da RMC, foram coletadas amostras de sangue para determinar a taxa de filtração glomerular (TFG), hematócrito e níveis de troponina. Ainda, os pacientes com AF realizaram um eletrocardiograma (ECG) de 12 canais de rotina.

Categorização do fenótipo da cardiomiopatia

As recomendações publicadas por Weidemann et al (18) foram utilizadas para definir 4 classes do fenótipo da cardiomiopatia relacionada à AF, que leva em conta 2 parâmetros de imagem: a espessura do septo interventricular ao final da diástole (SIV) e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE). O fenótipo cardíaco da AF foi categorizado como “ausente”, “leve”, “intermediário” e “grave” de acordo com a terminologia definida por Weidemann (18).

Ressonância magnética cardíaca: aquisição

Os exames de ressonância cardíaca foram realizados no Hospital das Clínicas da UNICAMP em aparelho de 3.0 Tesla (Philips Healthcare, The Netherlands), com software cardíaco e bobinas de sinergia com 5 elementos. O protocolo utilizado envolveu aquisição de imagens eletrocardiograficamente sincronizadas, com sequências em cine SSFP (TrueFISP) com tempo de repetição TR=3.4ms, tempo echo TE=1.2ms, e resolução espacial =1.5-2 mm para determinação das funções ventriculares, volumes e massa. Uma sequência gradiente-echo *inversion-recovery* (IR) com aquisição segmentada foi utilizada para avaliação do realce tardio por gadolínio (RTG); as imagens tinham espessura de 8mm e foram obtidas 10 minutos após o fim da administração cumulativa de 0,2 mmol/kg de gadoterato de meglumina (Dotarem, Guerbet, Aulnay-sous-Bois, France). Para a

quantificação de T1 foi utilizada a sequência tipo *Look Locker* (82), com um pulso de inversão adiabático não seletivo seguido por uma série de imagens ponderadas gradiente-echo com diferentes tempos após a inversão (TE = 2.7 ms; TR = 5.5 ms; flip angle = 10^0 ; 192 x 128 matrix; 8-mm corte). Ao todo, foram cobertos aproximadamente 2 ciclos cardíacos (TI incremento: 100 ms pré-contraste, e 55 ms pós-contraste, ciclo de repetição Look-Locker com intervalos >4 intervalos RR pré-contraste, e 3 intervalos RR pós-contraste) em cortes axiais ao nível dos segmentos médios do VE. Nos mesmos locais, as imagens ponderadas em T1 foram obtidas antes, e 4 a 5 vezes após a injeção de gadolínio para cobrir aproximadamente um período de 30-min de clearance do contraste. Os voluntários também foram escaneados utilizando-se um sistema 3-Tesla (Siemens Trio, Siemens Medical Systems) utilizando as mesmas técnicas (SSFP cine para função de VE, técnica Look-Locker para mapeamento de T1, e sequência IR para avaliação de RTG).

Quantificação da função do VE, fibrose e hipertrofia do cardiomiócito

As imagens foram analisadas quanto à massa ventricular, volumes e função global utilizando o *software* MASS CMR (Mass Research, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands) (102). As medidas de massa e volumes foram indexadas pela superfície corporal. Para cada série de imagens Look-Locker, foi realizada a segmentação do miocárdio do VE (excluindo os músculos papilares) e este foi, em seguida, dividido em seis segmentos padrões. Em cada um destes segmentos, foram plotadas curvas sinal T1 vs tempo após inversão com correção por uma amostra de sinal do sangue no ventrículo. Um modelo estatístico não linear foi então empregado para construir a curva de recuperação do sinal T1. A partir daí, o R1 ($=1/T1$) do miocárdio e do sangue foram utilizados para construir um modelo de 2 compartimentos do transporte transcitolêmico da água, como já descrito por nosso grupo (102). O VEC do miocárdio e o *tic*, uma medida proporcional ao

diâmetro do cardiomiócito (97), foram os parâmetros calculados, enquanto o hematócrito foi o parâmetro fixo deste modelo.

Análise estatística

Os resultados foram apresentados com média \pm desvio padrão. Testes t de Student foram usados para comparar variáveis contínuas entre grupos. Correlação bivariada foi usada para avaliar associações (Spearman ou Pearson, quando apropriado). Regressão linear multivariada foi usada para construir um modelo para o tempo de vida da água intracelular (τ_{ic}), com o índice de massa do VE e a idade no início da doença como preditores simultâneos. Um fator de variância de inflação < 3 foi usado como critério para checar multicolinearidade. O teste Cochran Armitage foi usado para avaliar se havia uma tendência de aumento na proporção de pacientes com VEC $>$ mediana ao longo dos estágios da classificação de Weidemann (18) para o fenótipo da cardiopatia na AF. Análise de regressão multinomial foi usada para prever a classificação de Weidemann (18) a partir do VEC. Regressão logística foi usada para prever o status neurológico usando o escore FARS a partir do VEC e do τ_{ic} . Curva ROC foi construída a partir de modelos destes modelos de regressão logística. Os intervalos de confiança para área sob a curva (ASC) foram estimados baseados no método DeLong de computação da variância da ASC. Todas as análises estatísticas foram realizadas na plataforma R (versão 3.4.3, The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; <http://www.Rproject.org>). Valores de p menores que 0.05 foram considerados estatisticamente significativos.

4. Resultados

Os resultados do estudo são apresentados em detalhes em cada um dos artigos que compõem esta tese.

Estudo 1: Sudomotor dysfunction is frequent and correlates with disability in Friedreich ataxia.

Publicado na revista Clinical Neurophysiology, 129 (2018) 2290-2295.

Estudo 2: Pre-clinical left ventricular myocardial remodeling in patients with Friedreich's Ataxia: A cardiac MRI study.

Submetido para publicação em periódico indexado (European Heart Journal).



Sudomotor dysfunction is frequent and correlates with disability in Friedreich ataxia

Karen A.G. Takazaki^a, Thiago Junqueira R. Rezende^a, Alberto R.M. Martinez^a, Carelis Gonzalez-Salazar^a, Anamarli Nucci^a, Iscia Lopes-Cendes^b, Marcondes C. França Jr.^{a,*}

^aDepartments of Neurology, School of Medical Sciences, University of Campinas – UNICAMP, Campinas, SP, Brazil

^bMedical Genetics, School of Medical Sciences, University of Campinas – UNICAMP, Campinas, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Accepted 22 August 2018

Available online 31 August 2018

Keywords:

Friedreich's ataxia
Autonomic nervous system
Heart rate variability
Sudomotor function
QSART

HIGHLIGHTS

- Cardiovascular dysautonomia is not common in Friedreich's ataxia (FRDA).
- Sudomotor dysfunction is frequent and related to peripheral damage in FRDA.
- QSART correlates with ataxia severity and is a promising biomarker for FRDA.

ABSTRACT

Objectives: To evaluate autonomic symptoms and function in Friedreich's Ataxia (FRDA).

Methods: Twenty-eight FRDA patients and 24 controls underwent clinical/electrophysiological testing. We employed the Friedreich's Ataxia Rating Scale (FARS) and the Scales for Outcomes in Parkinson's Disease: Autonomic Questionnaire-SCOPA-AUT to estimate the intensity of ataxia and autonomic complaints, respectively. Cardiovascular tests and the quantitative sudomotor axonal reflex, Q-SART, were then assessed in both groups.

Results: In the patient group, there were 11 men with mean age of 31.5 ± 11.1 years. Mean SCOPA-AUT score was 15.1 ± 8.1 . Minimum RR interval at rest was shorter in the FRDA group (Median 831.3×724.0 ms, $p < 0.001$). The 30:15 ratio, Valsalva index, E:I ratio, low and high frequency power presented no differences between patients and controls ($p > 0.05$). Sweat responses were significantly reduced in patients for all sites tested (forearm 0.389×1.309 μ L; proximal leg 0.406×1.107 μ L; distal leg 0.491×1.232 μ L; foot 0.265×0.708 μ L; p value < 0.05). Sweat volumes correlated with FARS scores.

Conclusions: We found abnormal sudomotor but normal heart rate variability in FRDA. Small cholinergic post-ganglionic fibers are affected in the disease.

Significance: Quantification of sudomotor function might be a biomarker for FRDA.

© 2018 International Federation of Clinical Neurophysiology. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Friedreich ataxia (FRDA) is considered the most prevalent autosomal recessive ataxia worldwide with estimated prevalence of 3/100,000. The disease is common in Caucasian populations, but practically absent in sub-saharan regions and in the Far East. In 95% of the cases, the underlying cause is a homozygous expansion of a (GAA) repeat in intron 1 of *FXN* at 9q21.1 (Koeppe, 2011; Durr et al., 1996; Campuzano et al., 1996; Fogel and Perlman, 2007). This leads to a transcriptional abnormality that results in the lack of frataxin, a mitochondrial protein related to iron homeostasis (Campuzano et al., 1997). Neurological signs include ataxia, dysar-

Abbreviations: FRDA, Friedreich's ataxia; FARS, Friedreich's Ataxia Rating Scale; SCOPA-AUT, Scales for Outcomes in Parkinson's Disease – Autonomic Questionnaire; HRV, heart rate variability; E:I ratio, expiratory, inspiratory ratio; LF, low frequency band; HF, high frequency band; R30, maximum-to-minimum variation in deep breathing; QSART, quantitative sudomotor axonal reflex test; LFPA, low frequency power; HFPA, high frequency power; MIBG, meta-iodo benzylguanidine.

* Corresponding author at: Department of Neurology, University of Campinas – UNICAMP, Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, Cidade Universitária “Zeferino Vaz”, Campinas, SP 13083-887, Brazil.

E-mail address: mcfrancajr@uol.com.br (M.C. França).

<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2018.08.017>

1388-2457/© 2018 International Federation of Clinical Neurophysiology. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

thria, lower limb atrophy and weakness, widespread areflexia, Babinski sign, loss of joint and vibratory sensation, and sensory neuropathy. Other clinical features that may be present are scoliosis, feet deformities (*pes cavus*), diabetes and cardiomyopathy (Koeppen, 2011; Pandolfo, 2008).

Autonomic dysfunction is present in several neurodegenerative disorders, including some inherited ataxias such as SCA3 (Takazaki et al., 2013; Yeh et al., 2005; França et al., 2010; Pradhan et al., 2008; Netravathi et al., 2009). Despite that, very few studies looked specifically at autonomic function in patients with FRDA. These included small cohorts and analyses were restricted to cardiovascular parameters (Ingall et al., 1991; Poussel et al., 1996). Moreover, most of them were published before the causal mutation of FRDA was identified, raising concerns about the diagnostic accuracy (Durr et al., 1996). Sudomotor function has never been properly explored in FRDA. Therefore, it remains unclear the real frequency and clinical relevance of dysautonomic manifestations in the disease.

Therefore, we believe that autonomic function deserves investigation in the disease. To accomplish that, we recruited a representative cohort to undergo detailed clinical and neurophysiological evaluation, using established techniques (Task force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology, 1996; Ravits, 1997; Low et al., 2006). We attempted to determine the frequency and the intensity of autonomic manifestations in patients with FRDA, using quantitative methods. We hypothesized that sudomotor and cardiovascular autonomic function would be abnormal in patients with FRDA. Furthermore, these abnormalities would correlate with other measures of disease status, such as duration and ataxia severity.

2. Methods

2.1. Subjects' selection

We first recruited 40 patients older than 18 years with genetic confirmation of homozygous abnormal (GAA) expansions at *FXN*. All of them were regularly followed at the University of Campinas hospital. These individuals were recruited between August/2015 and September/2017.

Most patients were taking Coenzyme Q10 and other vitamins ($n = 25/28$). We excluded 5 patients who used drugs known to interfere with autonomic function such as α and β blockers, β agonists, tricyclic antidepressants, α -metildopa, anti-histamines, diuretics and fludrocortisone. Seven diabetic patients were also excluded from further analyses. So, we were left with 28 patients for further clinical and neurophysiological analyses.

We recruited 24 healthy controls with similar age and gender distribution as in the FRDA group. None had neurological complaints. All of them had normal clinical and neurological examination. They were mostly students at the University of Campinas and volunteers from the local community. They were enrolled between 2015 and 2017. We took into account the same exclusion criteria employed for the FRDA group (described above).

This study was approved by our IRB (comitê de ética em pesquisa da UNICAMP). Each participant signed a written informed consent before any study-related procedure.

2.2. Clinical evaluation

All patients underwent clinical and neurological evaluation. Severity of ataxia and autonomic symptoms were quantified using the Friedreich's ataxia rating scale – FARS (Sudarsky, 2007) and the Scales for Outcomes in Parkinson's Disease – Autonomic Questionnaire (SCOPA – AUT, Carod-Artal et al., 2010), respectively. The last

questionnaire was chosen because it is the only validated autonomic scale for Brazilian Portuguese. Moreover, it has been successfully employed in studies that assessed autonomic features in inherited ataxias, including a recently published report on FRDA (Takazaki et al., 2013; Indelicato et al., 2018). We also measured blood pressure (BP) and heart rate in supine and orthostatic positions.

2.3. Heart rate variability (HRV) analyses

2.3.1. Procedure

We performed neurophysiological tests in the morning using the WR medical HRV testing lab and the Nihon Kohden autonomic software running on the MEB 9200J electromyograph. All subjects were instructed to refrain from taking alcohol, coffee or nicotine in the 12 h before testing. All procedures took place in a quiet and temperature-controlled room (23–26 °C). We asked patients and controls to lay supine for 5 min prior to the onset of the tests.

We assessed HRV using a D2 derivation of the conventional electrocardiogram (bandpass: 1–20 Hz, no filtering). Consecutive QRS complexes were recorded and the exact interval (in ms) between two successive complexes (RR interval) was then computed. We looked carefully all RR intervals to remove artifacts and ectopic beats visually.

HRV was first studied at rest (for 5 min); then in standing position for 3 min, during and after the Valsalva maneuver and finally during deep breathing (6 incursions per minute). Valsalva maneuver was performed with the patient in supine position, and head elevated at 30°. Patients were asked to blow a mouthpiece connected to a manometer, under 40 mm Hg pressure for 15 s. RR intervals were recorded during the maneuver and 45 s later. This procedure was repeated other 2 times, and the greater Valsalva index was used.

2.3.2. Time domain analyses

We have calculated, for each subject, 30:15 ratio, Valsalva index and Expiratory: Inspiratory (E:I) ratio, according to Ewing et al. (1980). We also determined minimum, maximum and mean RR interval at rest.

2.3.3. Frequency domain analysis (spectral power)

We performed spectral analyses from RR intervals obtained in a 5-min resting period. Fast Fourier transformation algorithm was used to switch time domain (ms) into frequency domain (Hz) data (Asahina et al., 2010). Then spectral power of the low (LF: 0.04–0.15 Hz) and high frequency bands (HF: 0.15–0.50 Hz) were determined, according to Asahina et al. (2010).

2.3.4. Definition of cardiac dysautonomia

We defined cardiac autonomic dysfunction according to the modified Ewing criteria (Ewing et al., 1980). Afterwards, patients were classified as having or not definite cardiac dysautonomia.

2.4. Quantitative sudomotor axonal reflex test (QSART)

Sudomotor function was assessed through QSART performed with the WR medical Q-SWEAT quantitative sweat measurement lab. Stimulus and recording were done through a multi-compartmental sweat capsule, placed on standardized places for the test: forearm, proximal leg, distal leg and foot, on the left side. The capsule lays in the skin and its external ring is filled with acetylcholine 10% in solution. Internally, nitrogen gas flows over the skin and humidity outflow is measured by a hygrometer. When the baseline becomes stable, iontophoresis starts with acetylcholine at 2 mA for 5 min. Humidity is constantly measured up to 15 min after the stimulus onset. Volume of induced sweat is

determined through humidity change. Results were analyzed through the equipment software; values for total sweat volume (area under the curve) and latencies to the onset of sweating were recorded.

2.5. Statistical analyses

Main results are summarized with descriptive statistics and shown in tables/plots. We used Student's *t*-test or Mann-Whitney test to perform patient vs control comparisons in terms of clinical and neurophysiologic data (according to data distribution). Bonferroni correction for multiple comparisons was employed whenever necessary. Comparisons of proportions were carried out using Fisher's exact test. Correlations between autonomic results and severity of ataxia were assessed through linear regression. Level of significance = 5% was set for all analyses. We ran statistical analyses on SYSTAT 10.2 software.

3. Results

3.1. Clinical data

There were 11 men and 17 women left for analyses. Mean age and disease duration of patients were 31.5 ± 11.1 and 13.5 ± 8.9 years, respectively. There were 19 patients with classical FRDA and 9 with late onset FRDA (onset > 25 y). We recruited 13 men and 11 women as the healthy control group. Mean age of controls was 35.8 ± 9.1 years. Patients and controls were matched in terms of gender and age ($p = 0.171$ and 0.128 , respectively). SCOPA-AUT scores were significantly higher in the FRDA group in comparison to the control group ($p < 0.005$). SCOPA-AUT domains with higher scores were gastrointestinal, genitourinary and sudomotor. We found no between-group difference regarding cardiovascular domain subscores ($p = 0.746$). In line with that, postural hypotension (drop of systolic BP ≥ 20 mmHg or diastolic BP ≥ 10 mmHg) was not identified neither in patients, nor in controls.

Demographic, clinical and neurophysiologic data of patients and controls are depicted in Table 1.

3.2. HRV analyses

There was a significant difference between patients with FRDA and controls regarding minimum RR interval at rest (Median 831.3,

IQR 98.0×724.0 , IQR 98.0 ms, $p < 0.001$). We found no significant differences for all other measures of resting HRV as well as the 30:15 ratio, Valsalva index and E:I ratio ($p = 0.481$, $p = 0.255$ and $p = 0.307$, respectively). Both groups also had similar low frequency power (LFPA) and high frequency power (HFPA) ($p = 0.808$ and $p = 0.820$, respectively).

None of the patients had definite cardiovascular dysautonomia according to Ewing's criteria.

3.3. QSART analyses

All 4 sites tested had significantly smaller volumes of sweat in patients when compared to healthy controls. When we looked at the latencies, we found significant differences between groups at the proximal and distal leg (Tables 2 and 3, Fig. 1).

We identified an inverse correlation between FARS score and QSART output for all sites tested (Fig. 2): forearm ($R = -0.44$, $p = 0.002$), proximal leg ($R = -0.49$; $p < 0.001$), distal leg ($R = -0.40$; $p = 0.009$) and foot ($R = -0.32$, $p = 0.03$). SCOPA-AUT total scores and sweat sub scores did not correlate with any of the QSART responses ($p > 0.05$).

Table 2
QSART volumes obtained in the 4 sites tested in FRDA patients and controls.

Site	FRDA	Controls	p-value
Forearm volume (μ L)	0.389 (0.783)	1.309 (0.842)	0.002*
Proximal leg volume (μ L)	0.406 (1.050)	1.107 (1.011)	0.004*
Distal leg volume (μ L)	0.491 (1.191)	1.232 (1.010)	0.041
Foot volume (μ L)	0.265 (0.763)	0.708 (0.416)	0.020

*Data expressed as median and IQR range.

*Indicates that the result remains significant after Bonferroni correction ($p < 0.012$).

Table 3
QSART latencies in 4 sites obtained in FRDA patients and controls.

Site	FRDA	Controls	p-value
Forearm latency (s)	109 (87.5)	106.5 (67.0)	0.353
Proximal leg latency (s)	122.5 (63.0)	92.5 (71.0)	0.018
Distal leg latency (s)	125.5 (65.0)	89.0 (82.0)	0.032
Foot latency (s)	156.0 (87.0)	119.0 (79.0)	0.216

*Data expressed as median and IQR range.

Table 1
Clinical and demographic data of patients and controls.

	FRDA (n = 28)	Controls (n = 24)	p-value
Age (mean; SD, years)	31.5 ± 11.1	35.8 ± 9.1	0.128
Gender (M/F)	11/17	14/10	0.171
Disease duration (mean \pm SD, years)	13.5 ± 8.9	–	–
FARS score (mean \pm SD)	55.7 ± 22.7	–	–
Systolic blood pressure in supine position (mean \pm SD, mmHg)	119.5 ± 17.9	113.7 ± 10.0	0.196
Diastolic blood pressure in supine position (mean \pm SD, mmHg)	73.4 ± 12.6	73.2 ± 7.2	0.950
Systolic blood pressure in standing position, after 3 min (mean \pm SD, mmHg)	124.2 ± 12.7	122.7 ± 14.2	0.761
Diastolic blood pressure in standing position, after 3 min (mean \pm SD)	83.0 ± 9.9	82.2 ± 6.6	0.813
Heart rate in supine position (beats per minute)	76.9 ± 15.2	67.0 ± 11.4	0.026
Heart rate in standing position, after 3 min (beats per minute)	89.2 ± 18.8	77.0 ± 14.1	0.055
SCOPA-AUT score (median; IQR range)	13.5 (14.5)	4.0 (9.5)	<0.001*
SCOPA-AUT- gastric/bowel score (median, IQR range)	3.0 (6.0)	0.0 (2.0)	0.003*
SCOPA-AUT- genital and urinary score (median, IQR range)	5.0 (7.0)	1.0 (4.5)	0.004*
SCOPA-AUT- sweat score (median, IQR range)	3.0 (4.0)	0.0 (0.0)	<0.001*
SCOPA-AUT- cardiovascular score (median, IQR range)	0.0 (2.5)	0.0 (2.0)	0.746
SCOPA-AUT- pupillary score (median, IQR range)	0.0 (1.0)	0.0 (0)	0.620
SCOPA-AUT- sexual score (median, IQR range)	0 (0.0)	0 (0 – 0)	0.526

IQR: Interquartile range.

*Indicates that the result remains significant after Bonferroni correction ($p < 0.007$).

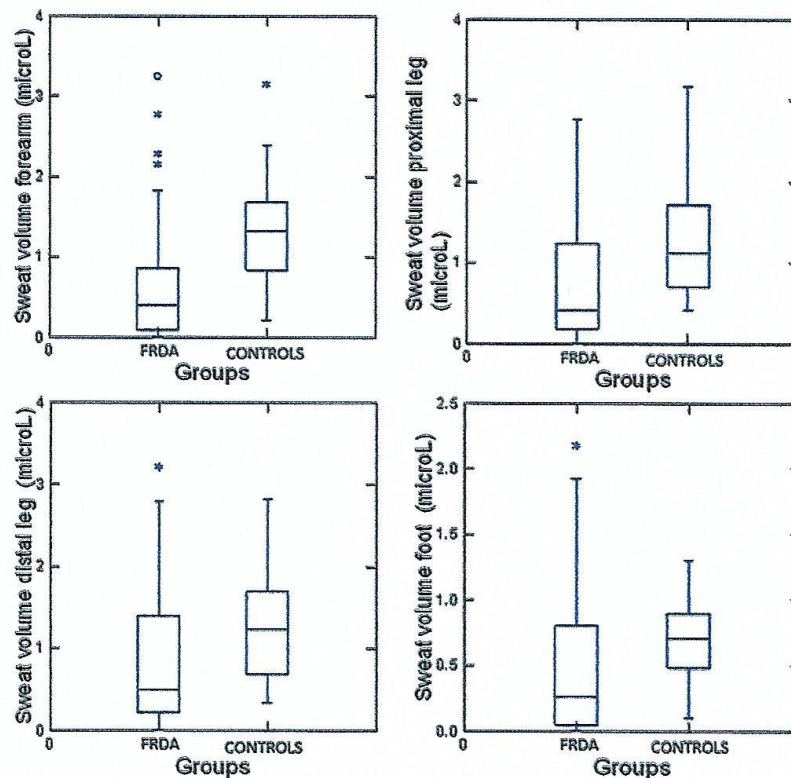


Fig. 1. Box and whiskers plot showing sweat responses in patients with FRDA and controls for each site tested.

4. Discussion

Autonomic dysfunction in FRDA has been a matter of debate over the years. This is mostly due to the limited number of studies devoted to the subject (Ingall et al., 1991; Pousset et al., 1996). Moreover, the available data rely upon small series, purely clinical diagnoses of FRDA (published prior to *FXN* identification) and autonomic assessment restricted to HRV analyses. In the present survey, we were able to investigate a representative cohort with molecular confirmation. Two additional strengths of our study were the inclusion of a validated to Brazilian Portuguese questionnaire for autonomic symptoms (SCOPA-AUT) and the quantitative evaluation of sudomotor function (through QSART). In this scenario, we were able to show that patients with FRDA indeed have autonomic symptoms and signs, but with a rather peculiar pattern. Neurophysiological tests revealed that heart rate variability looks essentially preserved, whereas sudomotor function is globally compromised. In a similar way, sweat but not cardiovascular complaints were significantly more common among patients with FRDA when compared to healthy controls. This pattern of selective autonomic dysfunction is different from that reported in autosomal dominant ataxias, where cardiovascular control is often impaired (Takazaki et al., 2013; Pradhan et al., 2008). The reasons for that are possibly the distinct profile of structural abnormalities (either in central and peripheral nervous system) found in FRDA and SCAs (Koeppen, 2011; Pandolfo, 2008; Schöls et al., 2004).

The major cardiovascular finding revealed by neurophysiological tests indicates that patients with FRDA have relative tachycar-

dia at rest. Pousset et al. (1996) and more recently Indelicato et al. (2018) found similar results. They hypothesized that this might be due to excessive sympathetic stimulation and/or compensation for compromised heart function. In line with that, two of our patients had echocardiographic evidence of left ventricular systolic dysfunction, but only one had clinical manifestations of heart failure. Resting tachycardia is related to cardiac events and increase mortality in hypertrophic cardiomyopathy (El-Saiedi et al., 2014; Kawasaki et al., 2012), so that it remains to be investigated whether the same holds true for FRDA-related cardiomyopathy. To address this point, we believe it would be necessary to study FRDA patients prospectively and to assess sympathetic innervation of the heart using techniques such as MIBG scintigraphy (Gupta et al., 2015).

QSART is a validated neurophysiological technique that enables the quantitative assessment of sudomotor function, and more specifically of small post-ganglionic sympathetic fibers. Using this tool, we were able to show widespread sudomotor dysfunction in FRDA patients, caused by damaged small cholinergic fibers. These results are in line with Nolano et al. (2001), who found significant loss of epidermal nerve fibers in skin biopsies of FRDA patients, with reduced innervation of sweat glands, erector pilorum muscles and arterioles. Overall, our results suggest that neurodegeneration in FRDA is not confined to the dorsal root ganglia, spinal cord and deep cerebellar nuclei. There is associated damage to efferent fibers of the autonomic nervous system. Interestingly, QSART responses at all four sites tested had significant correlations with disease severity (expressed by FARS scores). This raises the poten-

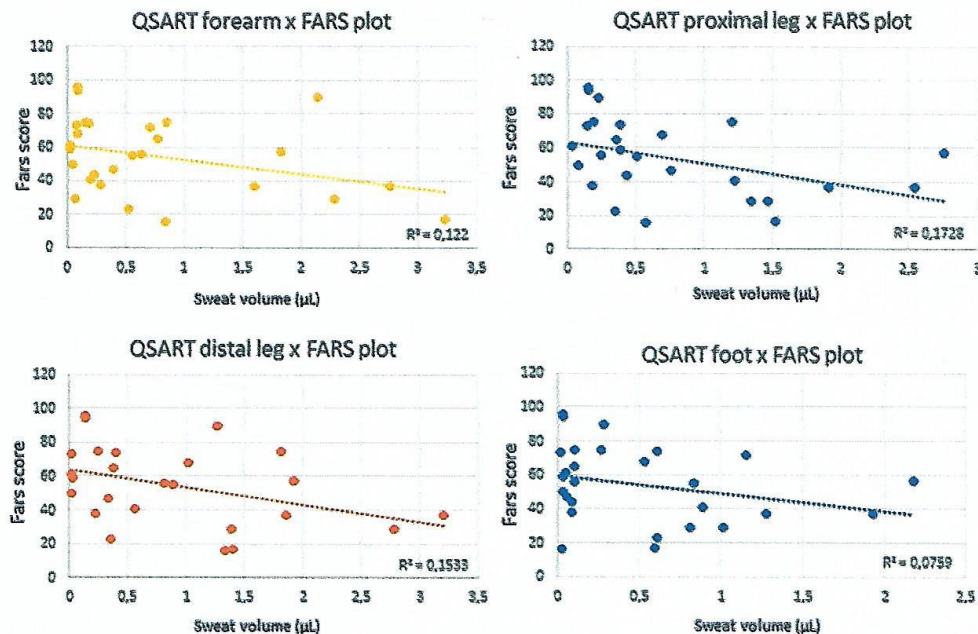


Fig. 2. Plots showing the correlation between FARS score and sweat responses for each site tested.

tial usefulness of the technique, which is fast and non-invasive, as a biomarker for FRDA clinical trials. Again, prospective studies are needed to confirm this impression.

This study has some important limitations. The first one is the lack of paired NCS and EMG data. All these patients had NCS and EMG, but these were mostly done early in the disease course for diagnostic purposes. We were not able to use a beat to beat Blood pressure measurement device. Although this limits the evaluation of cardiac sympathetic functioning, we must consider that manual measurements at 1 and 3 min after standing did not reveal any significant change. In line with that, low frequency power derived from spectral analyses – which evaluates cardiac sympathetic tone – failed to identify any change between patients and controls.

5. Conclusion

We have shown that patients with FRDA have frequent manifestations related to some specific domains of the autonomic nervous system. Some of these are potentially amenable to treatment. QSART results indicate that there is peripheral sympathetic dysfunction in the disease, the quantification of which may become a useful biomarker for follow-up.

Disclosures

The authors report no disclosures.

Funding

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Grant 2013/01766-7). FAPESP did not interfere in any way in the design of the study, collection of data, analyses and drafting of this manuscript.

References

- Asahina M, Katagiri A, Yamanaka Y, Akaogi Y, Fukushima T, Kanai K, et al. Spectral analysis of heart rate variability in patients with Machado-Joseph disease. *Auton Neurosci* 2010;154:99–101.
- Campuzano V, Montermini L, Lutz Y, Cova L, Hindelang C, Jiralerspong S, et al. Frataxin is reduced in Friedreich ataxia patients and is associated with mitochondrial membranes. *Hum Mol Genet* 1997;6:1771–80.
- Campuzano V, Montermini L, Moltò MD, Pianese L, Cossée M, Cavalcanti F, et al. Friedreich's ataxia: autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science* 1996;271:1423–7.
- Carod-Artal FJ, Ribeiro LS, Kummer W, Martinez-Martin P. Psychometric properties of the SCOPA-AUT Brazilian Portuguese Version. *Mov Disord* 2010;25:205–12.
- Durr A, Cossee M, Agid Y, Campuzano V, Mignard C, Penet C, et al. Clinical and genetic abnormalities in patients with Friedreich's ataxia. *N Engl J Med* 1996;335:1169–75.
- El-Saied SA, Seliem ZS, Esmail RI. Hypertrophic cardiomyopathy: prognostic factors and survival analyses in 128 Egyptian patients. *Cardiol Young* 2014;24:702–8.
- Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF. The natural history of diabetic autonomic neuropathy. *Q J Med* 1980;49:95–108.
- Fogel BL, Perlman S. Clinical features and molecular genetics of autosomal recessive cerebellar ataxias. *Lancet Neurol* 2007;6:245–57.
- França Jr MC, D'Abreu A, Nucci A, Lopes-Cendes I. Clinical correlates of autonomic dysfunction in patients with Machado-Joseph disease. *Acta Neurol Scand* 2010;121:422–5.
- Gupta S, Amanullah A. Radionuclide imaging of cardiac sympathetic innervation in heart failure: unlocking untapped potential. *Heart Fail Rev* 2015;20:215–26.
- Indelicato E, Fanciulli A, Ndayisaba JP, Nachbauer W, Eigentler A, Granata R, et al. Autonomic function testing in Friedreich's ataxia. *J Neurol* 2018. <https://doi.org/10.1007/s00415-018-8946-0> [Epub ahead of print].
- Ingham TJ, McLeod JC. Autonomic function in Friedreich's ataxia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991;54:162–4.
- Kawasaki T, Sakai C, Harimoto K, Yamano M, Miki S, Kamitani T, et al. Holter monitoring and long-term prognosis in hypertrophic cardiomyopathy. *Cardiology* 2012;122:44–54.
- Koeppen AH. Friedreich's ataxia: pathology, pathogenesis, and molecular genetics. *J Neurol Sci* 2011;303:1–12.
- Low VA, Sandroni P, Fealey RD, Low PA. Detection of small-fiber neuropathy by sudomotor testing. *Muscle Nerve* 2006;34:57–61.
- Netravathi M, Sathyaprabha TN, Jayalaxmi K, Datta P, Nirmala M, Pal PK. A comparative study of cardiac dysautonomia in autosomal dominant spinocerebellar ataxias and idiopathic sporadic ataxias. *Acta Neurol Scand* 2009;12:204–9.

- Nolano M, Provitera V, Crisci C, Saltalamacchia AM, Wendelschafer-Crabb G, Kennedy WR, et al. Small fibers involvement in Friedreich's ataxia. *Ann Neurol* 2001;50:17–25.
- Pandolfo M. Friedreich ataxia. *Arch Neurol* 2008;65:1296–303.
- Pousset F, Kalotka H, Durr A, Isnard R, Lechat P, Le Heuzey JY, et al. Parasympathetic activity in Friedreich's ataxia. *Am J Cardiol* 1996;78:847–50.
- Pradhan C, Yashavanya BS, Pal PK, Sathyaprabha TN. Spinocerebellar ataxias type 1, 2 and 3: a study of heart rate variability. *Acta Neurol Scand* 2008;117:337–42.
- Ravits JM. AAEM Minimonograph # 48: autonomic nervous system testing. *Muscle Nerve* 1997;20:919–37.
- Schöls L, Bauer P, Schmidt T, Schulte T, Riess O. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics and pathogenesis. *Lancet Neurol* 2004;3:291–304.
- Sudarsky LR. Validation of a neurological-exam-based rating scale (FARS) for Friedreich's ataxia. *Nat Clin Pract Neurol* 2007;3:138–9.
- Takazaki KA, D'Abreu A, Nucci A, Lopes-Cendes I, França Jr MC. Dysautonomia is frequent in Machado-Joseph disease: clinical and neurophysiological evaluation. *Cerebellum* 2013;12:513–9. <https://doi.org/10.1007/s12311-013-0458-y>.
- Task force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology. Heart rate variability. Standards of measurement physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996; 93: p. 1043–65.
- Yeh TH, Lu CS, Chou YH, Chong CC, Wu T, Han NH, et al. Autonomic dysfunction in Machado-Joseph disease. *Arch Neurol* 2005;62:630–6.

Pre-clinical left ventricular myocardial remodeling in patients with Friedreich's Ataxia: A cardiac MRI study

Karen A. G. Takazaki¹, Thiago Quinaglia A. C. Silva², Thiago D. Venancio¹, Alberto Martinez¹, Ravi Shah MD³, Tomas G. Neilan, MD MPH³, Michael Jerosch-Herold⁴, Otávio R. Coelho-Filho², Marcondes C. França Jr¹

¹Department of Neurology, School of Medical Sciences, University of Campinas – UNICAMP, Campinas, SP, BRAZIL

² Department of Cardiology, School of Medical Sciences, University of Campinas – UNICAMP, Campinas, SP, BRAZIL

³ Division of Cardiology and Cardiac MR PET CT Program, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

⁴Department of Radiology, Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

Word count: 4879

Running Title: Left ventricular myocardial remodeling in Friedreich's Ataxia

Disclosures (including any relationship with industry): All authors (K.A.G.T., T.Q.A.C.S., T.D.V., A.M., R.S., T.G.N., M.J.H., O.C.R.F. and M.C.F) declare no conflict of interest.

Correspondence to: Otávio Rizzi Coelho-Filho MD, MPH, PhD.

Assistant Professor of Medicine

Division of Cardiology, Department of Medicine,

School of Medical Sciences, University of Campinas (UNICAMP),

Rua Tessália Viera de Camargo, 126

Campinas - SP - Brasil - CEP 13083-887

Tel: +55 19 996038484, Fax: +55 19 35218788

Email: orcfilho@unicamp.br; tavicocoelho@gmail.com

Twitter: @Otavio_Coelho_F

Acknowledgments:

The authors thank the biomedical technologists Juliana Francischinelli and Vanessa Bettini for their efforts with CMR scanning of the patients in this study.

Sources of Funding

Dr. Coelho-Filho is supported by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) Productivity in Research award grant (303366/2015-0) and travel award grant (453960/2016-2). Dr. Coelho-Filho is also supported by a Young Investigators Grant from The São Paulo Research Foundation (2015/15402-2). Dr. Neilan has the following support: The Kohlberg Foundation, an American Heart Association Fellow to Faculty Award (12FTF12060588), National Institutes of Health/ National Heart, Lung, and Blood Institute (1R01HL130539-01A1; 1R01HL137562-01A1, K24HL113128-06) and National Institutes of Health/ Harvard Center for AIDS Research (P30 AI060354). Dr. França Jr is supported by research grants from the São Paulo Research Foundation – FAPESP (2013/01766-7).

Structured Abstract (250 words):

Background: Heart Failure (HF) is the most common cause of death in Friedreich's ataxia (FRDA), an inherited mitochondrial disease. Myocardial fibrosis is a well-documented histopathological feature among FRDA patients with HF.

Objectives: Investigate myocardial remodeling in patients with genetically confirmed FRDA, and without signs of HF.

Methods: Twenty-six FRDA's patients (age 26.6 ± 9.3 years, 15 women) without signs of HF, and 10 healthy controls (32.6 ± 7.3 years, 5 women) underwent cardiac magnetic resonance (CMR) studies for assessment of left ventricular (LV) function, myocardial T1, late gadolinium enhancement (LGE), extracellular volume fraction (ECV), and intracellular water-lifetime (τ_{ic}) as marker of cardiomyocyte size. Neurological decline was determined using the FRDA rating scale (FARS 3).

Results: FRDA patients had normal LV ejection fraction (LVEF: 67.66 ± 11.4 vs. 63.9 ± 9.0 , $P=0.311$), larger LV mass index (LVMASSi: 61.03 ± 22.1 vs. $45 \pm 4.2 \text{ g/m}^2$, $P<0.001$), and decreased LV end-diastolic volume index (LVEDVi 53.42 ± 12 vs. 75.7 ± 16.1 , $P=0.002$), compared with controls. ECV and τ_{ic} , were increased in FRDA patients (ECV: 0.36 ± 0.05 vs. 0.25 ± 0.02 , $P<0.0001$; τ_{ic} : 0.13 ± 0.07 vs. 0.06 ± 0.03 , $P=0.001$). ECV was positively associated with LV mass-to-volume ratio ($r=0.628$, $P<0.001$). FARS 3 correlated positively with disease duration ($r=0.669$, $P<0.001$), and negatively with τ_{ic} , ($r=-0.478$, $P=0.039$). LVMASSi and cardiomyocyte mass-index $[(1-ECV) \cdot \text{LVMASSi}]$ declined with age, indicating that LV hypertrophy may transition to a "burn-out" phase with LV atrophy.

Conclusions: LV hypertrophy in FRDA reflects an expansion of the myocardial interstitium and an increase in cardiomyocyte size. In contrast, the neurological decline was more likely with decreasing cardiomyocyte size, possibly an early sign of myocardial "burn-out" in FRDA.

Keywords: Friedreich's ataxia, hypertrophy, left ventricular remodeling, T1 mapping techniques, fibrosis, and magnetic resonance imaging.

Condensed Abstract (100 words):

Heart Failure (HF) is the most common cause of death in Friedreich's ataxia (FRDA), with interstitial fibrosis a distinguishing feature of the end-stage myocardial phenotype. In this study of myocardial tissue remodeling in 26 FRDA's patients (mean age 26.6 ± 9.3 years, 15 women) without signs of HF, LV hypertrophy in FRDA is due to both an expansion of the myocardial interstitium, and an increase in cardiomyocyte size. In contrast, neurological decline was more likely with decreasing cardiomyocyte size, independent of age and ECV, and may be an early marker of myocardial "burn-out" in FRDA.

Clinical Perspective:

Friedreich's ataxia (FRDA) is the most common autosomal recessive ataxia worldwide, caused by homozygous GAA expansions of the *FXN* gene. Cardiac involvement, which is the leading cause of death, occurs in up to 60% of all FRDA patients. While systolic dysfunction occurs in late stages, augmented myocardial interstitial fibrosis is commonly present in FRDA patients with heart failure (HF). In this study, using innovative cardiac magnetic resonance markers of myocardial tissue remodeling including the extracellular volume (ECV) — a marker of interstitial fibrosis — and the intracellular lifetime of water (τ_{ic}) — a marker of cardiomyocyte size, we demonstrated that the cardiac phenotype of FRDA patients without signs of HF is characterized by concentric LV hypertrophy, preserved systolic function, and expansion of the extracellular volume, combined with an above-normal τ_{ic} . The negative correlation between LV cardiomyocyte mass index and age suggests that during disease progression LV hypertrophy may regress, indicating that cardiomyocyte size may be a useful cardiac biomarker, possibly preceding HF, with important potential clinical implications.

Introduction

Friedreich's ataxia (FRDA) is the most frequent autosomal recessive ataxia worldwide with a prevalence of approximately 1 in 50,000(1). It is caused by homozygous GAA expansions in intron 1 of the *FXN* gene on chromosome 9q13(2). The mutation results in a severe deficiency of frataxin, a mitochondrial protein that plays a key role in iron homeostasis(3). This leads to nervous system, endocrine and cardiac damage. Neurodegeneration in FRDA extends to dorsal root ganglia, spinal cord, and deep cerebellar nuclei (4). Thus, mixed sensory and cerebellar ataxia combined with pyramidal signs are the major neurological characteristics of FRDA

Cardiac involvement is found in up to 60% of all FRDA patients and it is considered the leading cause of death(5-7). It consists of concentric and symmetrical increase of ventricular wall thickness associated with either a normal or small left ventricular (LV) cavity (8,9). While systolic function is usually preserved early in the disease course, cardiac systolic dysfunction ultimately takes place in late stages, leading to congestive heart failure (HF) and ventricular arrhythmias (10). Proliferation of myocardial interstitial fibrosis is a hallmark of established FRDA's cardiomyopathy with clinical HF (11), and constitute the tissue substrate for arrhythmias.

Cardiac magnetic resonance (CMR) imaging has emerged as a promising diagnostic technique in FRDA patients, not only to determine the severity of LV remodeling(12,13) but also to assess the expansion of interstitial myocardial fibrosis (e.g., myocardial T1 time and extracellular volume fraction, ECV) and cardiomyocyte size, using novel, validated CMR biomarkers (14-16). These novel biomarkers provided valuable insights into the myocardial microstructural abnormalities in several diseases, and their potential for following heart disease in the long term has been highlighted in recent recommendations(14). Nevertheless, they have not been fully explored in patients with FRDA. Therefore, in this study we investigated the myocardial extracellular volume fraction (ECV) and intracellular water lifetime (τ_{ic}), using T1-weighted CMR imaging, in a cohort of patients with FRDA

without signs of heart failure. We also investigated whether myocardial tissue phenotyping by CMR can highlight particular characteristics of LV remodeling in FRDA's cardiomyopathy, beyond those currently assessed with imaging-based classification(17) of disease severity.

Methods

Subjects' selection and clinical assessment

We recruited 26 consecutive patients with genetic confirmation of FRDA regularly followed at the University Hospital of the State University of Campinas (UNICAMP), Brazil between 2014 and 2016. All enrolled patients were homozygous for GAA expansions at *FXN*. As a control population, 10 volunteers were prospectively recruited under an IRB-approved protocol and reported elsewhere(18,19). The Institutional Review Board at UNICAMP approved the protocol for FRDA patients, and all participants provided informed consent. For each FRDA patient, we collected data on age at disease onset and presence of either neurological or cardiovascular symptoms. Patients underwent routine clinical and neurological examination. The Friedreich's Ataxia Rating Scale (FARS 3)(20) was employed to quantify neurological function (higher scores indicate more severe ataxia). Standardized anthropometric data were also obtained (height, weight and BMI). On the day of CMR imaging, we also collected blood samples to determine glomerular filtration rate (GFR), hematocrit and troponin levels. In addition, all FDRA patients underwent routine resting 12-lead electrocardiogram (ECG). We employed the recommendations published by Weidemann(17) to define 4 grades of the cardiomyopathic phenotype related to FRDA (FRDA-CM), which take into account two imaging parameters: end-diastolic wall thickness of the interventricular septum (IVS) and LVEF. The FRDA cardiac phenotype categories were labeled as "absent", "mild", "intermediate", and "severe" in accordance with the terminology defined by Weidemann et al.

Cardiac magnetic resonance imaging

All subjects underwent CMR imaging in supine position in a 3-Tesla magnet (Achieva, Philips Medical Systems, Best, The Netherlands). Electrocardiographically gated cine imaging with steady state free-precession (SSFP) using repetition time $TR=3.4$ ms, echo time $TE=1.2$ ms, and in-plane spatial resolution=1.5-2 mm was performed to assess left ventricular (LV) volumes, function and mass. An inversion-recovery-prepared, gradient-echo sequence with segmented acquisition was applied for late gadolinium enhancement (LGE) imaging at 10 minutes after the end of a cumulative administration of 0.2 mmol/kg of gadoterate meglumine (Dotarem, Guerbet, Aulnay-sous-Bois, France). Slice locations for LGE imaging (8-mm slice thickness) matched those for cine imaging. For the T1 quantification we used Look-Locker imaging (21) with a non-slice-selective adiabatic inversion pulse, followed by segmented gradient-echo acquisition for 17-25 times-after-inversion ($TE = 2.7$ ms; $TR = 5.5$ ms; flip angle $=10^0$; 192 x 128 matrix; 8-mm slice), covering approximately 2 cardiac cycles (TI increments: 100 ms pre-contrast, and 55 ms post-contrast, Look-Locker cycle repetition intervals >4 RR intervals pre-contrast, and 3 RR intervals post-contrast) in two short-axis slices at the level of the mid segments of the LV. In the same locations, T1 imaging was done before, and 4 to 5 times after the injection of gadolinium to cover an approximately 30-min period of contrast clearance. Volunteers were also scanned using a 3-Tesla system (Siemens Trio, Siemens Medical Systems) using the same techniques (SSFP cine for LV function, Look-Locker technique for T1 imaging, and IR-prepared segmented GRE technique for LGE) as for FRDA patients.

Quantification of LV function, fibrosis and cardiomyocyte hypertrophy

Standard methods were applied to measure LV mass, volumes and function using a dedicated software (Mass Research, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands). LV mass and volumes were indexed to body surface area. For each Look-Locker image series, the endocardial and epicardial borders of the LV were traced, excluding papillary muscles (21), and the LV wall was divided into 6 segments (Mass Research, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands). To determine T1*, signal intensity versus time-after-inversion curves for each myocardial segment, and the blood pool, were iteratively phase-restored, and fit with a nonlinear, least-squares algorithm to the standard equation for inversion recovery. T1 was calculated from T1* and the amplitude parameters from the fit, to correct for the effects of radiofrequency pulses applied during the Look-Locker read-outs. R1 (1/T1) values for myocardial tissue and blood data were fit with a 2-space model of transcytolemmal water exchange as previously described(22). The myocardial extracellular volume fraction (ECV) and the intracellular water lifetime (τ_{ic}), a cell size-dependent parameter, were adjustable parameters of this model. Blood hematocrit was a fixed parameter of the model.

Statistical analysis

Results are summarized as mean \pm standard deviation. T-tests were used to compare continuous variables between groups. Binary data was compared using Fisher exact test when appropriate, or a χ^2 test otherwise. Bivariate correlation was used to assess associations (Spearman or Pearson, when appropriate). Multi-variate linear regression analysis was used to build a model for intracellular water lifetime (τ_{ic}), with LV mass index and age at disease onset as simultaneous predictors. A variance inflation factor < 3 was used as criterion to check for multicollinearity. The Cochran Armitage test was used to test for a trend in the proportion of patients with ECV $>$ median across the levels of the

Weidemann classification of FRDA cardiac phenotype. Multinomial regression analysis was used to predict Weidemann classification from ECV. Logistical regression was used to predict a neurological status with FARS 3 > median from ECV and intracellular lifetime. Receiver operating curves (ROC's) were built from the logistical regression models. The confidence intervals for the area under the curve (AUC) were estimated based on DeLong's method of computing the variance of the AUC. Statistical analyses were performed with R (version 3.4.3, The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; <http://www.Rproject.org>). A two-sided p value less than 0.05 was considered statistically significant.

Results

Baseline characteristics of the study population

Demographic, clinical and laboratory data of all recruited patients and controls are illustrated in Table-1. Mean age of FRDA's patients and disease duration were 26.6 ± 9.3 and 12.2 ± 7.1 years, respectively. Twenty-three patients had classical FRDA presentation, while 3 had late onset FRDA (onset after 25 years). Mean lengths of GAA1 (longer) and GAA2 (shorter) alleles were 1051 ± 306 and 910 ± 254 repeats, respectively. Seven (27%) patients had diabetes mellitus, one (4%) had hypertension, and one (4%) had been previously diagnosed with HF. At the time of CMR, all FRDA patients were free of signs of HF with no restriction to ordinary physical activity(23).

Regarding neurological disability, median FARS 3 score was 61 (range: 36-97). In this cohort, neurological function, expressed by FARS 3 scores, was strongly associated with time since disease onset ($r=0.669$, $P<0.001$, Figure-2A). Age at onset was inversely associated with the shorter allele GAA length – log transformed ($r=-0.665$, $p=0.009$), and age showed a trend towards an inverse association with the longer allele ($r=-0.52$, $p=0.058$).

CMR Results: FRDA compared to Healthy Controls

All FRDA patients completed the CMR studies without any adverse reactions. Figure-1 shows images illustrating the typical cardiac phenotype in FRDA with increased LV mass, preserved LVEF and epicardial LGE. The main CMR findings for the FRDA and control groups are summarized in Table-2. LV systolic function was preserved in the FRDA group (LV EF > 50%), except for one patient (LV EF = 37%), but LV volumes and IVS thickness were all significantly increased compared to healthy controls. Both myocardial ECV (0.36 ± 0.05 vs. 0.25 ± 0.02 , $p=0.001$) and the intracellular water lifetime (τ_{ic}) (0.13 ± 0.07 s vs. 0.06 ± 0.03 s, $p=0.001$) were significantly higher in the FRDA group compared to healthy controls. Five out of 26 patients (19%) had positive LGE with an atypical pattern for coronary artery disease, whereas none of the controls presented such finding.

Associations of CMR and clinical characteristics of FDRA

CMR-derived global parameters of myocardial remodeling, such as LV end systolic and diastolic volumes, mass and mass-to-volume ratios, were remarkably different between FRDA patients and controls (Table-2), but did not correlate with neurological (FARS 3 score) or genetic (GAA1/GAA2 length) parameters in the FRDA group. LV mass index was inversely associated with age at CMR exam ($r=-0.36$, $p=0.07$). In FRDA patients, ECV correlated negatively with the QTc duration ($r=-0.441$, $p<0.05$), and positively with the LV mass-to-volume ratio (g/ml) ($r=0.628$, $p<0.001$, Figure-2B). Genetic (GAA1/GAA2 length), and demographic data (age/disease duration) did not correlate with ECV. We further explored the cardiomyocyte mass-index (CMI), which is defined as $(1-ECV) \times LV \text{ mass}/(\text{body surface area})$. The CMI correlated inversely with age at CMR ($r=-0.439$, $p=0.02$, Figure-2C). The intracellular water lifetime (τ_{ic}) had a significant correlation with age at onset ($r=0.534$, $p=0.013$), and also with LV mass-index, when τ_{ic} was simultaneously adjusted by the age at disease onset.

CMR phenotype of FRDA and Weidemann classification

According to Weidemann's criteria for the FRDA-CM cardiac phenotype(17) there were 8 (31%) patients without FRDA-CM, 5 (15%) with mild FRDA-CM, 12 (46%) with intermediate FRDA-CM, and 2 (8%) with severe FRDA-CM. As there were only two patients in the "severe" category of the Weidemann classification, they were pooled with those in the "intermediate" category (N=14; 54%), for comparison with "mild" and "absent". The proportion of FRDA patients with a myocardial ECV above the median in the cohort (0.36) increased significantly with severity of cardiac phenotype ($P=0.0061$ for Cochran-Armitage test for increasing trend; Figure 3A). In a multinomial regression model for Weidemann classification, with ECV as single predictor, the intermediate-to-severe forms of the cardiac phenotype in FRDA were associated with increasing levels of extracellular volume expansion ($P=0.04$), as illustrated in Figure 3B. The mild form of FRDA cardiac phenotype was not associated with ECV ($P=0.4$), a result that may be partially due to the relative small number of patients in this category (N=4). LGE was most frequent in the group of patients corresponding to Weidemann's "intermediate or severe" CM phenotypes (N=4, 3% median LGE as % of LV mass), but there was no significant association between LGE presence and Weidemann category. There was also no association between Weidemann categories and FARS 3 score.

CMR characteristics and neurological status of FRDA patients

There was a strong correlation between τ_{ic} and neurological function, captured by FARS 3 scores ($r=-0.478$, $p=0.039$, Figure-2D), and also between FARS 3 and LV EDV index ($r=0.43$, $p=0.03$), but LV mass index, LV EF, LV mass-to-volume, and ECV did not correlate with the FARS 3 scores. A FARS 3 score > median for FRDA patients could be predicted with significant accuracy from ECV and τ_{ic} as illustrated by the receiver-operating curves (ROC's) in Figure 4A. Three logistical regression models for FARS 3 score > median were tested with a) ECV as single predictor (AUC=0.707 95% CI: 0.49-0.92; p-value for coefficient for ECV: 0.617), and b) intra-cellular lifetime as single predictor

(AUC=0.71 95% CI: 0.47-0.95; p-value for coefficient for τ_{ic} : 0.464), and c) ECV and τ_{ic} included as simultaneous predictors (AUC = 0.98; 95% CI: 0.93-1.0; ECV coefficient p-value=0.007; τ_{ic} coefficient p-value=0.013). The variance inflation factors for both ECV and τ_{ic} were < 2 , suggesting that multi-collinearity did not affect the coefficient estimates. The classification of the neurological status (FARS 3 $>$ median) based on simultaneous use of ECV and τ_{ic} is illustrated in Figure 4B.

Discussion

In this study, FRDA patients without HF had a cardiac phenotype characterized by concentric LV hypertrophy with predominantly preserved systolic function, in accordance with previous reports (17,24). The expansion of the extracellular volume, combined with an above-normal lifetime of water (τ_{ic}), evidences a tissue phenotype in FRDA characterized by interstitial fibrosis and cardiomyocyte hypertrophy, in agreement with previous histological studies. The negative correlation between LV cardiomyocyte mass index and age suggests that during disease progression, LV hypertrophy may regress or transition to atrophy. Reinforcing this putative transition to a “burn out” phase in FRDA(25) is the observation in our study that cardiomyocyte atrophy, assessed by the intracellular lifetime of water, and LV dilation (LV EDVi) were both associated with neurological decline. Taken together, these findings suggest that CMR characterization of the myocardial tissue phenotype provides novel insights into the disease progression in FRDA and may help to detect early signs of atrophy that correlate with neurological decline, yet may precede a significant decline of left-ventricular ejection fraction and the transition to heart failure.

Cardiomyopathy was the underlying cause of death in 59% of patients with FRDA in a large retrospective study(6). Despite the high burden of cardiac mortality, FRDA-CM has not received as much research interest as the neurological manifestations (8). There are few published studies; most of them assessed small cohorts and solely employed echocardiographic data (26,27). Recently,

promising therapeutic agents for FRDA emerged and some of them are moving fast towards human clinical trials (28,29). Hence, there has been renewed interest in imaging methods to assess the FRDA-CM phenotype: First of all, because some of the potential drugs target specifically the heart (30); secondly, because available neurological or neuroimaging biomarkers have proven disappointing to track longitudinal progression of the disease(31). Taking these neurological scores as main outcome measure in randomized clinical trials proves difficult, since this would require excessively large sample sizes for such a rare disease. Therefore, we believe that the current study provides novel insights into the potential use of CMR as a biomarker for FRDA. In particular, our results indicate CMR-derived parameters may help assess microstructural changes in the heart of patients with FRDA that appear to be associated with disease progression and neurological decline.

The major contribution of this study relates to the description of CMR-derived markers of myocardial tissue remodeling in FDRA patients. FRDA patients had increased myocardial ECV and above-normal intracellular lifetime of water (τ_{ic}). ECV can increase due to the extracellular collagen deposition, a distinctive feature of the histopathology of the heart in FRDA. ECV can provide evidence of (diffuse) fibrosis beyond the foci of non-viable tissue detected by LGE imaging, and has been shown to predict short-term mortality in a large series of patients with hypertrophic cardiomyopathy(32). Some of our patients had no detectable LGE, despite increased ECV values.

The intracellular lifetime, τ_{ic} , has been validated by histological analyses as a non-invasive measure directly related to cardiomyocyte size (15). It depends on the mean time for diffusion of water between the interstitial and intracellular spaces, which is closely related to cell size(15). A higher than normal τ_{ic} indicates that cardiomyocyte hypertrophy is prevalent in FRDA-CM. The intra-cellular lifetime was approximately twice as long in FRDA-CM compared to controls, suggesting a doubling of cardiomyocyte size, and a 4 x larger cross-sectional area. The latter estimation for cardiomyocyte cross-sectional area is in good agreement with histological results from a previous study(33) of FRDA patients (cardiomyocyte cross-sectional area of 804 μm^2 vs 249 μm^2 in controls). Patients with later

onset, i.e. shorter disease duration when presenting for the CMR study, had higher τ_{ic} values. FRDA-CM generally first presents with cardiomyocyte hypertrophy, and in a later “burn-out” phase—to borrow a term from HCM—manifests itself by a regression of cardiomyocyte hypertrophy or possibly LV atrophy and LV dilation. This could potentially explain why patients diagnosed earlier, and with longer disease duration, have a lower intra-cellular lifetime (17,30). In mouse models of FRDA(30,34) myofibrils are atrophied and the initial cardiac hypertrophy has developed into a dilated cardiomyopathy at the onset of cardiac failure.

The intracellular lifetime, τ_{ic} , correlated negatively with neurological function (FARS.3 score), which suggests that while cardiac hypertrophy is a distinctive feature of the cardiac phenotype in FRDA after onset, the neurological decline may be most pronounced with advancing age, regression of cardiomyocyte hypertrophy, and ventricular dilation. Nevertheless, for prediction of FARS 3 > median, both ECV and τ_{ic} had a significant effect. As ECV represents a volume fraction, a fixed total amount of connective tissue in the myocardial interstitial space of the LV will lead to a lower ECV value in the presence of cardiomyocyte hypertrophy, compared to normal-sized cardiomyocytes. This may explain why ECV, as a marker of interstitial fibrosis, can potentially be confounded by cardiomyocyte size, in particular during a later phase of the disease, when interstitial fibrosis is fully established but cardiomyocyte architectural plasticity still evolves.

ECV by itself is not associated with the neurological impairment. In contrast, ECV correlated with the classification of cardiac phenotype based on the criteria of Weidemann et al. This classification ranks the expression of a cardiac phenotype characterized by LV hypertrophy. Any regression of cardiomyocyte hypertrophy can result in an increase of ECV when the absolute amount of interstitial collagen deposition remains relatively fixed. A regression in cardiomyocyte hypertrophy can therefore become a confounding effect in the relation between ECV and FARS 3. With simultaneous adjustment by the intra-cellular lifetime, an absolute measure of cardiomyocyte size, ECV significantly improved the prediction of FARS 3. A previous study(17) in 191 patients with

FRDA-CM did not find any association between neurological and cardiac involvement, based on an assessment of LV volumes and function with CMR, but this previous study did not include an assessment of ECV and/or cardiomyocyte size (e.g. non-invasively by intra-cellular lifetime, or by biopsy).

Myocardial fibrosis in FRDA also manifests itself through LGE, which identifies areas with macroscopic replacement fibrosis. In our study, LGE was less prevalent than in the study published by Weidemann et al, and this might be due to differences in the distribution of patients across the spectrum of FRDA disease severity (17). In other hypertrophic cardiomyopathies, the presence of extensive areas of LGE has been associated with increased risk of arrhythmias and adverse cardiac events (35,36). Patients in our cohort were on average 7 years younger and our cohort also included patients with late onset FRDA (3/26), which might explain these differences.

Our results are consistent with pathological analyses of the heart in FRDA (33,37). Koeppen et al. assessed post-mortem data of 15 patients with FRDA and found a general pattern of concentric hypertrophy with reduced ventricular sizes, and thickened walls. On microscopy, fibrosis and collagen deposition were reported as conspicuous findings. There was also remarkable cardiomyocyte hypertrophy (mean area of $693\mu\text{m}^2 \times 250\mu\text{m}^2$ in controls). The authors hypothesized that such hypertrophy could be an adaptive response to fiber loss. Similar findings have been recently reported for spinal cord damage, which is now considered a mixed developmental and degenerative process (38) – there is evidence (39) that the spinal cord is already thinner than normal at birth.

Limitations

The current study has several limitations. Firstly, is its limited sample size. Although we detected significant differences between FDRA patients and healthy controls, further investigations should be performed to further elucidate myocardial tissue remodeling during the progression to heart failure.

Secondly, we chose to use a Look-Locker approach for T1 mapping rather than standard sequences (e.g., modified Look-Locker techniques, or MOLLI) since this approach has been validated for quantification of the intra-cellular lifetime of water. Moreover, standard T2-weighted images, or T2 mapping have not been acquired, but proven useful for other cardiomyopathies. Finally, outcomes assessment was not possible because of the study design.

Conclusions

LV mass index, ECV and intracellular lifetime of water were notably elevated in FRDA patients, consistent with a cardiac hypertrophy phenotype in FRDA. The negative association of τ_{ic} with FARS 3 scores, and the increase of FARS scores with duration since initial diagnosis suggest that regression of cardiomyocyte hypertrophy may be a useful cardiac biomarker to follow FRDA-CM.

References

1. Durr A, Cossee M, Agid Y et al. Clinical and genetic abnormalities in patients with Friedreich's ataxia. *N Engl J Med* 1996;335:1169-75.
2. Campuzano V, Montermini L, Molto MD et al. Friedreich's ataxia: autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science* 1996;271:1423-7.
3. Campuzano V, Montermini L, Lutz Y et al. Frataxin is reduced in Friedreich ataxia patients and is associated with mitochondrial membranes. *Hum Mol Genet* 1997;6:1771-80.
4. Koeppen AH. Friedreich's ataxia: pathology, pathogenesis, and molecular genetics. *J Neurol Sci* 2011;303:1-12.
5. Payne RM. The Heart in Friedreich's Ataxia: Basic Findings and Clinical Implications. *Prog Pediatr Cardiol* 2011;31:103-109.

6. Tsou AY, Paulsen EK, Lagedrost SJ et al. Mortality in Friedreich ataxia. *J Neurol Sci* 2011;307:46-9.
7. Pousset F, Legrand L, Monin ML et al. A 22-Year Follow-up Study of Long-term Cardiac Outcome and Predictors of Survival in Friedreich Ataxia. *JAMA neurology* 2015;72:1334-41.
8. Weidemann F, Stork S, Liu D et al. Cardiomyopathy of Friedreich ataxia. *J Neurochem* 2013;126 Suppl 1:88-93.
9. Dedobbeleer C, Rai M, Donal E, Pandolfo M, Unger P. Normal left ventricular ejection fraction and mass but subclinical myocardial dysfunction in patients with Friedreich's ataxia. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2012;13:346-52.
10. Casazza F, Ferrari F, Piccone U, Maggiolini S, Capozzi A, Morpurgo M. [Progression of cardiopathology in Friedreich ataxia: clinico-instrumental study]. *Cardiologia* 1990;35:423-31.
11. Raman SV, Phatak K, Hoyle JC et al. Impaired myocardial perfusion reserve and fibrosis in Friedreich ataxia: a mitochondrial cardiomyopathy with metabolic syndrome. *Eur Heart J* 2011;32:561-7.
12. Weidemann F, Niemann M, Breunig F et al. Long-term effects of enzyme replacement therapy on fabry cardiomyopathy: evidence for a better outcome with early treatment. *Circulation* 2009;119:524-9.
13. Todiere G, Aquaro GD, Piaggi P et al. Progression of myocardial fibrosis assessed with cardiac magnetic resonance in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:922-9.
14. Messroghli DR, Moon JC, Ferreira VM et al. Clinical recommendations for cardiovascular magnetic resonance mapping of T1, T2, T2* and extracellular volume: A consensus statement by the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance (SCMR) endorsed by the European Association for Cardiovascular Imaging (EACVI). *J Cardiovasc Magn Reson* 2017;19:75.

15. Coelho-Filho OR, Shah RV, Mitchell R et al. Quantification of cardiomyocyte hypertrophy by cardiac magnetic resonance: implications for early cardiac remodeling. *Circulation* 2013;128:1225-33.
16. Coelho-Filho OR, Shah RV, Neilan TG et al. Cardiac magnetic resonance assessment of interstitial myocardial fibrosis and cardiomyocyte hypertrophy in hypertensive mice treated with spironolactone. *J Am Heart Assoc* 2014;3:e000790.
17. Weidemann F, Rummey C, Bijnens B et al. The heart in Friedreich ataxia: definition of cardiomyopathy, disease severity, and correlation with neurological symptoms. *Circulation* 2012;125:1626-34.
18. Neilan TG, Coelho-Filho OR, Shah RV et al. Myocardial extracellular volume fraction from T1 measurements in healthy volunteers and mice: relationship to aging and cardiac dimensions. *JACC Cardiovasc Imaging* 2013;6:672-83.
19. Coelho-Filho OR, Shah R, Lavagnoli CF et al. Myocardial tissue remodeling after orthotopic heart transplantation: a pilot cardiac magnetic resonance study. *The international journal of cardiovascular imaging* 2016.
20. Subramony SH, May W, Lynch D et al. Measuring Friedreich ataxia: Interrater reliability of a neurologic rating scale. *Neurology* 2005;64:1261-2.
21. Messroghli DR, Moon JC, Ferreira VM et al. Clinical recommendations for cardiovascular magnetic resonance mapping of T1, T2, T2* and extracellular volume: A consensus statement by the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance (SCMR) endorsed by the European Association for Cardiovascular Imaging (EACVI). *J Cardiovasc Magn Reson* 2017;19:75
22. Landis CS, Li X, Telang FW et al. Equilibrium transcytolemmal water-exchange kinetics in skeletal muscle in vivo. *Magn Reson Med* 1999;42:467-78.
23. New York Heart Association. Diseases of the heart and blood vessels: nomenclature and criteria for diagnosis. 6th ed. Boston,: Little, 1964.

24. Meyer C, Schmid G, Gorlitz S et al. Cardiomyopathy in Friedreich's ataxia-assessment by cardiac MRI. *Mov Disord* 2007;22:1615-22.
25. Poulsen SH, Sogaard P, Nielsen-Kudsk JE, Egeblad H. Dilated cardiomyopathy in Friedreich's ataxia: 2D echo and tissue-Doppler analysis of left ventricular and atrial function. *European journal of echocardiography : the journal of the Working Group on Echocardiography of the European Society of Cardiology* 2003;4:331-3.
26. St John Sutton M, Ky B, Regner SR et al. Longitudinal strain in Friedreich Ataxia: a potential marker for early left ventricular dysfunction. *Echocardiography* 2014;31:50-7.
27. Regner SR, Lagedrost SJ, Plappert T et al. Analysis of echocardiograms in a large heterogeneous cohort of patients with friedreich ataxia. *Am J Cardiol* 2012;109:401-5.
28. Seyer L, Greeley N, Foerster D et al. Open-label pilot study of interferon gamma-1b in Friedreich ataxia. *Acta Neurol Scand* 2015;132:7-15.
29. Soragni E, Miao W, Iudicello M et al. Epigenetic therapy for Friedreich ataxia. *Ann Neurol* 2014;76:489-508.
30. Perdomini M, Belbellaa B, Monassier L et al. Prevention and reversal of severe mitochondrial cardiomyopathy by gene therapy in a mouse model of Friedreich's ataxia. *Nature medicine* 2014;20:542-7.
31. Reetz K, Dogan I, Hilgers RD et al. Progression characteristics of the European Friedreich's Ataxia Consortium for Translational Studies (EFACTS): a 2 year cohort study. *Lancet Neurol* 2016;15:1346-1354.
32. Chan RH, Maron BJ, Olivotto I et al. Prognostic value of quantitative contrast-enhanced cardiovascular magnetic resonance for the evaluation of sudden death risk in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2014;130:484-95.
33. Koeppen AH, Ramirez RL, Becker AB et al. The pathogenesis of cardiomyopathy in Friedreich ataxia. *PLoS One* 2015;10:e0116396.

34. Puccio H, Simon D, Cossee M et al. Mouse models for Friedreich ataxia exhibit cardiomyopathy, sensory nerve defect and Fe-S enzyme deficiency followed by intramitochondrial iron deposits. *Nature genetics* 2001;27:181-6.
35. Adabag AS, Maron BJ, Appelbaum E et al. Occurrence and frequency of arrhythmias in hypertrophic cardiomyopathy in relation to delayed enhancement on cardiovascular magnetic resonance. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1369-74.
36. Green JJ, Berger JS, Kramer CM, Salerno M. Prognostic value of late gadolinium enhancement in clinical outcomes for hypertrophic cardiomyopathy. *JACC Cardiovasc Imaging* 2012;5:370-7.
37. Kruger PC, Yang KX, Parsons PJ, Becker AB, Feustel PJ, Koeppen AH. Abundance and Significance of Iron, Zinc, Copper, and Calcium in the Hearts of Patients With Friedreich Ataxia. *Am J Cardiol* 2016;118:127-31.
38. Mascalchi M, Bianchi A, Ciulli S et al. Lower medulla hypoplasia in Friedreich ataxia: MR Imaging confirmation 140 years later. *J Neurol* 2017;264:1526-1528.
39. Manto M, Pandolfo M. *The cerebellum and its disorders*. Cambridge, U.K. ; New York, NY, USA: Cambridge University Press, 2002.

Table 1. Demographic and clinical data of FDRA patients and healthy controls. All results are shown either as mean \pm SD or percentages.

Demographics, clinical and laboratory data at baseline			
	FRDA (n=26)	Healthy Controls (n=10)	P-value
Age (years)	26.6 \pm 9.3	32.6 \pm 7.3	0.054
Gender (M/F)	11/15	5/5	0.73
Systolic BP (mmHg)	115.7 \pm 13.4	113.6 \pm 12.9	0.68
Diastolic BP (mmHg)	74.8 \pm 9.7	71.5 \pm 5.3	0.236
Heart rate (bpm)	86.8 \pm 8.9	62.6 \pm 9.9	<0.001
BMI (kg/m ²)	20.7 \pm 3.3	24.4 \pm 4.4	<0.05
Body surface (m ²)	1.64 \pm 0.22	1.85 \pm 0.19	<0.05
Comorbidities			
Hypertension, %, (N)	4%, (1)	0	0.172
Diabetes, %, (N)	23%, (6)	0	0.118
Hyperlipidemia, % (N)	0	0	NS
Tobacco current use, %, (N)	0	0	NS
Heart Failure, %, (N)	4%, (1)	0	0.172
Medication use			
Angiotensin-converting enzyme inhibitor, %, (N)	12%, (3)	0	0.215
Aspirin, %, (N)	0	0	NS
β -Blocker, %, (N)	8%, (2)	0	0.394
Statin, %, (N)	0	0	NS
Metformin, %, (N)	12%, (3)	0	0.290
Insulin, %, (N)	12%, (3)	0	0.172
Diuretics, %, (N)	4%, (1)	0	0.172
Laboratory analyses			
GFR	121.2 \pm 41	124.5 \pm 19.9	0.627

Ht	41.6±2.8	42.3±2.6	0.305
hsTroponin	4.2±2.0	NA	NA

Data are presented as mean \pm SD. MBP: mean blood pressure; BMI: body mass index; GFR: glomerular filtration rate; Hb: hemoglobin; Ht: hematocrit; hsTroponin: high sensitivity troponin, NS= non significant.

Table 2. Cardiac magnetic resonance (CMR) findings in patients with Friedreich's ataxia and healthy controls.

	FRDA (n=26)	Healthy Controls (n=10)	P-value
IVS thickness (mm)	12.4±3.5	7.0±0.7	<0.001
LVEF (%)	67.66±11.4	63.9±9.0	0.311
LVEDV index (ml/m ²)	53.42±12	75.7±16.1	0.002
LVESV index (ml/m ²)	17.8±9.0	27.7±10.2	0.008
LV mass index (g/m ²)	61.03±22.1	45 ± 4.2	<0.001
LV mass / volume (g/ml)	1.2±0.4	0.54±0.1	<0.001
ECV	0.36±0.05	0.25±0.02	<0.001
Intracellular lifetime of water (τ_{ic})	0.13±0.07	0.06±0.03	0.001
LGE (%)	5/24(20%)	0/10 (0%)	0.118

Data are presented as mean ± SD. P-values are for T-test statistic, or test of proportions in the case of categorical variables. IVS - Intraventricular septum, LVEF- Left ventricle ejection fraction, LVEDV- Left ventricle end diastolic volume, LVESV- Left ventricle end systolic volume, LGE - Late gadolinium enhancement.

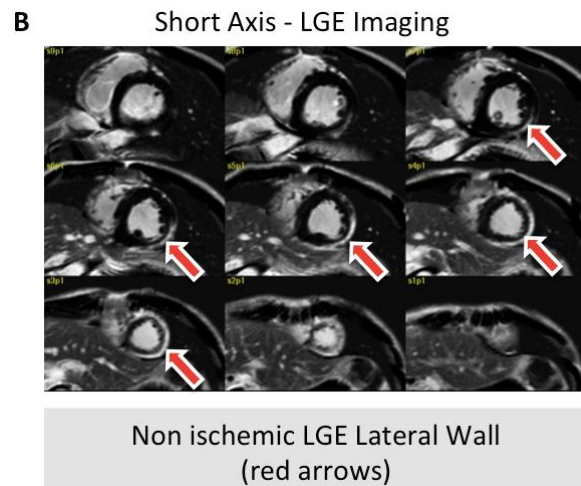
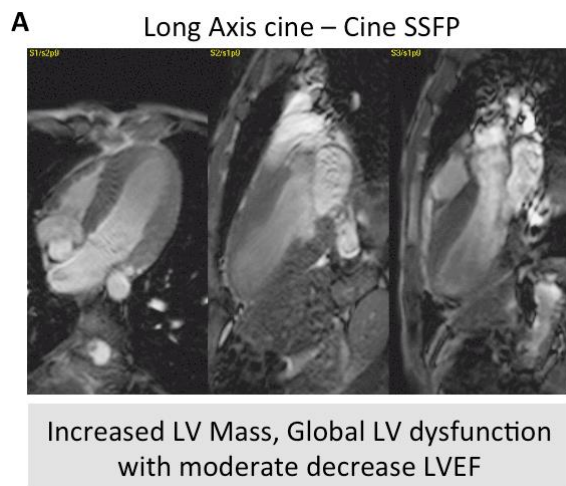
Figures:**Figure-1A-B:**

Figure-2A-D:

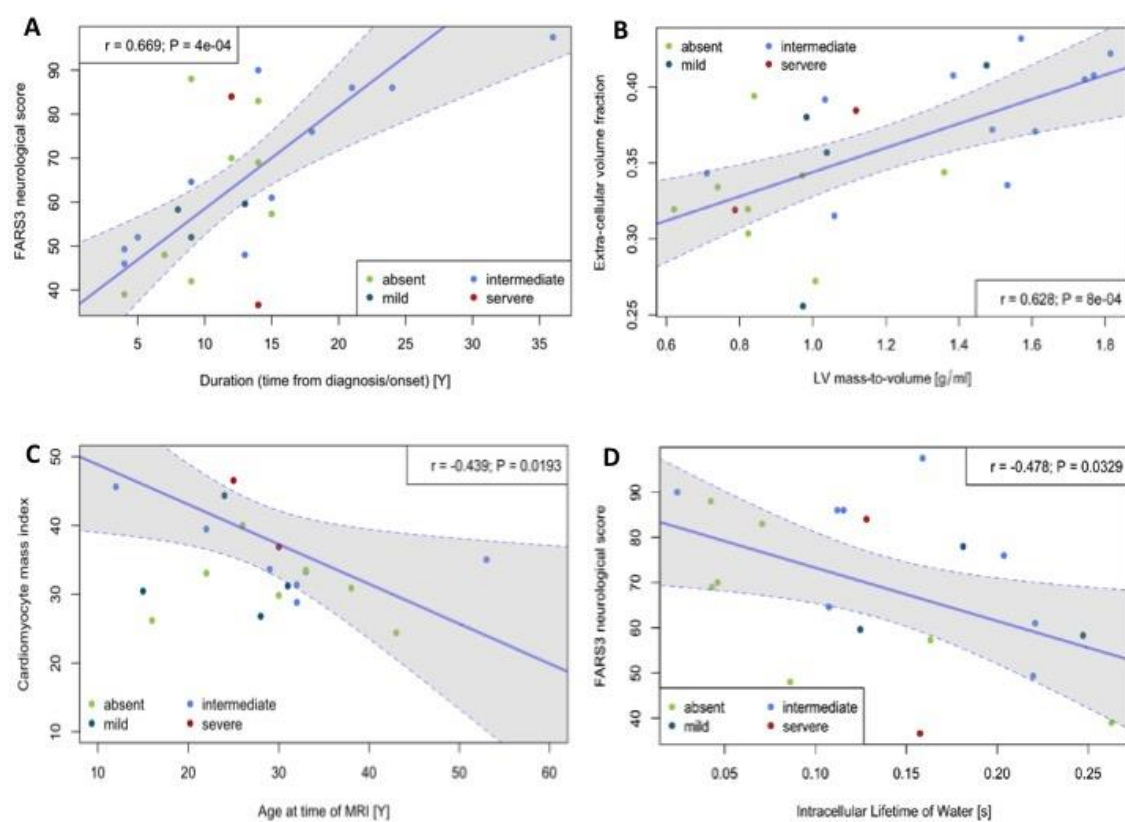


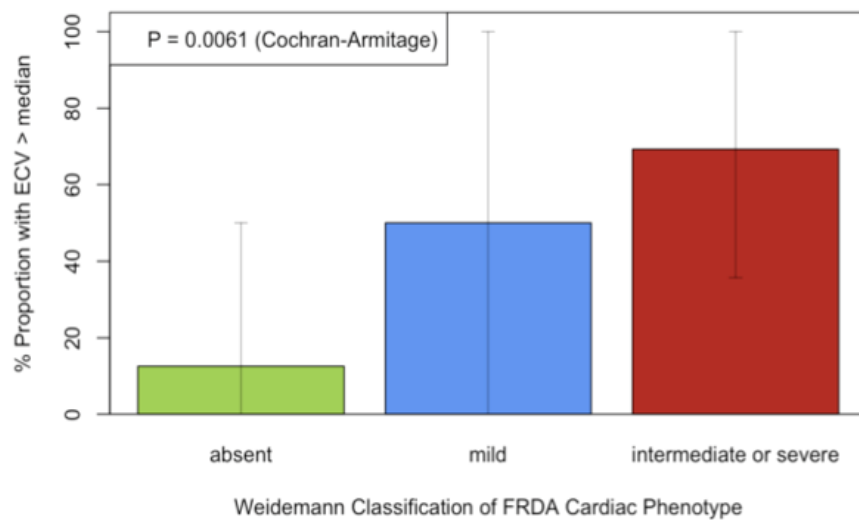
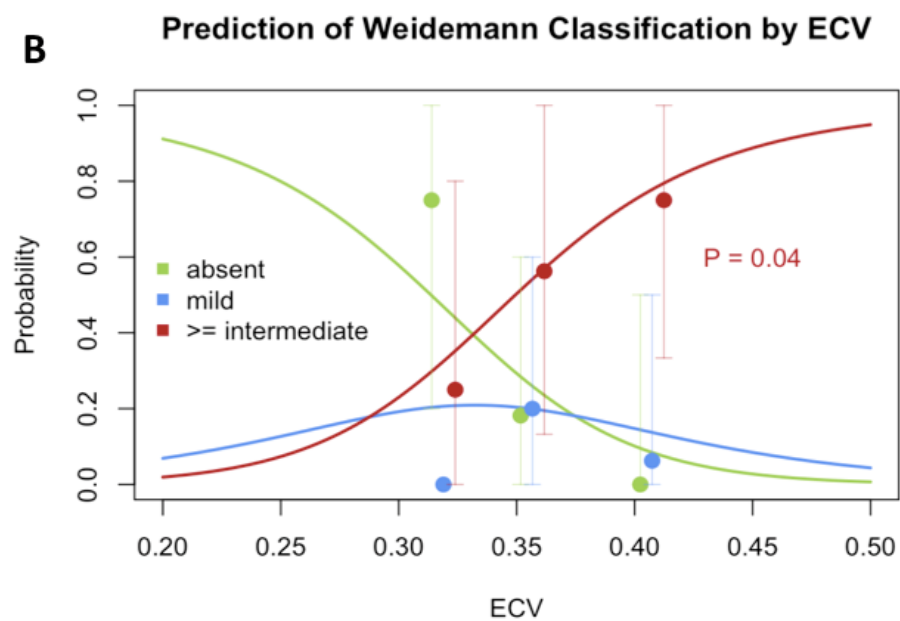
Figure-3A-B (Central Illustration):**A****B**

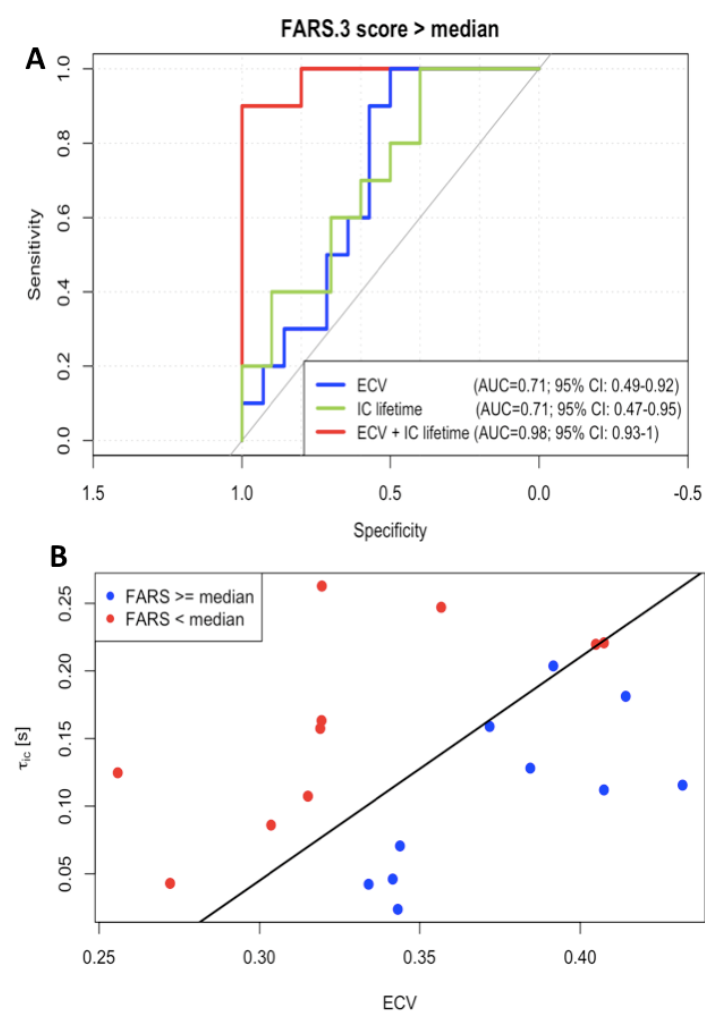
Figure-4A-B

Figure Legends:

Figure-1 A-B: CMR images from a FRDA patient with left ventricular hypertrophy with preserved LVEF (A) and LGE with epicardial pattern in the lateral wall of the LV (red arrows, B).

Figure-2 A-D: A: Association of FARS.3 neurological scale with disease duration. B: Association of ECV with LV mass-to-volume ratio. C: Relation between cardiomyocyte mass index (CMI) and age at time of MRI. D: Association of intracellular lifetime of water and FARS.3 score (D). The color of data points identifies the Weidemann's cardiomyopathy (CM) classification: green for absent CM; dark blue points for mild CM; light blue for intermediate CM, and red for severe CM.

Figure-3 A, B (Central Illustration): A) The proportion of FRDA patients with a myocardial ECV above the median in the cohort (0.36) increased significantly with severity of cardiac phenotype categorized as absent, mild, and intermediate/severe following the criteria introduced by Weidemann ($P=0.0061$ for Cochran-Armitage test for increasing trend). The error bars denote the 90% confidence intervals for the proportions, and were calculated by the bootstrap method. B) Intermediate to severe forms of the cardiac phenotype in FRDA were associated with increasing levels of extracellular volume expansion, a previously validated biomarker of diffuse interstitial fibrosis ($P=0.04$). The points correspond to the proportions of patients with "absent", "mild" and "intermediate or severe" cardiac phenotype, and the error bars denote their 90% confidence intervals determined by the bootstrap method. The lines show the predictions from a multinomial regression model of Weidman CM class by myocardial extracellular volume fraction (ECV).

Figure-4 A, B: A) The neurological status of FRDA patients was assessed by the FARS.3 score. Three models were tested to predict whether FARS.3 was above its median value (61): a) ECV, b) intra-

cellular lifetime, and c) both these variables simultaneously. The resulting receiver operating curves had an area-under-curve (AUC) that was significantly > 0.5 only for the model that included both ECV and intra-cellular lifetime (τ_{ic}) as predictors. There was a trend for a difference in AUC areas for models (a) and (c) ($P=0.08$). B) Both ECV and τ_{ic} allowed a near-perfect identification of patients with FARS.3 score $>$ median. The line corresponds to the 50% probability of FARS.3 $>$ median; it was calculated from the coefficient estimates obtained with a logistical regression model for FARS.3 $>$ median, with ECV and intra-cellular lifetime as possible independent predictors. Intracellular lifetime alone was also an independent predictor of FARS.3 $>$ median.

5. Discussão

Função autonômica na Ataxia de Friedreich

A presença de disfunção autonômica na AF tem sido debatida há anos. Isso devido ao número limitado de estudos dedicados ao assunto (61, 62, 63). Além disso, os dados disponíveis baseiam-se em pequenas amostras; os 2 estudos ocorreram antes da identificação do gene *FXN*, e a avaliação autonômica foi baseada apenas em análises da variabilidade da frequência cardíaca. Apenas Indelicato et al (63) adicionou o estudo da resposta simpática cutânea em 10 pacientes. No presente estudo, nós investigamos uma amostra representativa com confirmação molecular. Dois itens importantes do nosso estudo foram a inclusão de um questionário validado para o português do Brasil relacionado a sintomas autonômicos (SCOPA-AUT) e a avaliação da função sudomotora quantitativa, através do QSART. Diante desse cenário, pudemos mostrar que os pacientes com AF apresentam sintomas e sinais de disautonomia, porém com um padrão peculiar.

Os testes neurofisiológicos mostraram que a função autonômica cardíaca se encontra essencialmente preservada, enquanto a função sudomotora está globalmente comprometida. Da mesma forma, as queixas relativas à sudorese, mas não cardiovasculares são significativamente mais frequentes entre os pacientes com AF quando comparados aos controles. Este padrão seletivo de disfunção autonômica é diferente do padrão reportado em outras ataxias dominantes, onde o controle cardiovascular encontra-se frequentemente alterado (56, 60). Possivelmente isso decorra do padrão distinto de anormalidades estruturais (tanto central quanto acometimento do sistema nervoso periférico) encontrado na AF e nas ataxias espinocerebelares (1, 5, 104).

O principal achado cardiovascular mostrado nos testes neurofisiológicos indica que os pacientes com AF apresentam relativa taquicardia ao repouso. O mesmo dado foi demonstrado anteriormente por Pousset et al (62). Foi aventada a hipótese de que isso pode ser secundário a uma

estimulação simpática excessiva e/ ou compensação pela função cardíaca comprometida. Alinhado a isso, 2 dos nossos pacientes apresentavam evidência ecocardiográfica de disfunção ventricular sistólica, mas apenas um tinha manifestações clínicas de insuficiência cardíaca. Taquicardia de repouso está relacionada a eventos cardíacos e aumento da mortalidade em cardiomiopatia (105, 106), portanto deve-se investigar se o mesmo achado pode ser aplicado na cardiomiopatia da AF. Para acessar essa possibilidade, nós acreditamos que seria necessário um estudo prospectivo com os pacientes de AF e avaliar a inervação simpática do coração utilizando técnicas como a cintilografia por MIBG (107).

QSART é uma técnica neurofisiológica validada que permite a avaliação quantitativa da função sudomotora, e mais especificamente as fibras finas pós-ganglionares simpáticas. Utilizando essas técnicas, nós sugerimos a presença de uma disfunção sudomotora global nos pacientes com AF, causadas por lesão nas fibras finas colinérgicas. Este resultado está alinhado aos achados descritos anteriormente por Nolano M et al (108), que encontrou perda significativa de fibras nervosas em biópsias de pele em pacientes com AF, com redução da inervação das glândulas sudoríparas, músculos eretores dos pelos e arteríolas. Além disso, nossos dados indicam que a neurodegeneração na AF estende-se além do gânglio da raiz dorsal, colunas posteriores e núcleo denteado do cerebelo. Há lesão associada a fibras eferentes do sistema nervoso autonômico. De forma interessante, as respostas do QSART nos quatro sítios testados apresentaram correlação significativa com a gravidade da doença (expressa pelo escore FARS). Isso levanta a possibilidade do potencial uso da técnica, que é rápida e não invasiva, como um biomarcador de AF em pesquisas clínicas. Novamente, estudos prospectivos são necessários para a confirmação dessa impressão.

Cardiomiopatia na Ataxia de Friedreich

Neste estudo, os pacientes com AF sem insuficiência cardíaca apresentaram um fenótipo cardíaco caracterizado por hipertrofia do VE com função sistólica predominantemente preservada, o que está de acordo com estudos prévios (18, 79). A expansão do volume extracelular, combinada com elevação do tempo de vida intracelular da água, evidencia um fenótipo caracterizado por fibrose e hipertrofia do cardiomiócito, o que também está de acordo com estudos histológicos prévios. A correlação negativa encontrada entre o índice de massa do cardiomiócito e a idade sugere que durante a progressão da doença, a hipertrofia do VE pode regredir e fazer uma transição para atrofia. Essa transição para uma fase de “burn out” na AF (109) pode ser reforçada em nosso estudo através da atrofia do cardiomiócito, evidenciado pelo tempo de vida da água intracelular e da dilatação do VE, ambos associados a piora neurológica. Somados, esses achados sugerem que a caracterização tecidual por RMC levanta novos conceitos em relação à progressão da doença e pode ajudar a detectar sinais precoces de atrofia, esses possivelmente correlacionados com piora neurológica, que inclusive podem preceder um piora significativa da fração de ejeção do VE e a transição para insuficiência cardíaca.

A maior contribuição desse estudo refere-se à descrição de marcadores derivados de RMC no remodelamento miocárdico de pacientes com AF. Os pacientes apresentaram aumento do VEC no miocárdio e também do tempo de vida intracelular da água (τ_{ic}). O VEC se eleva devido à deposição de colágeno extracelular, um achado presente na histopatologia do coração na AF. O VEC demonstrou evidência de fibrose (difusa), além de focos não viáveis detectados pelo RTG. Este parâmetro foi capaz de prever mortalidade a curto prazo em uma grande série de pacientes com cardiomiopatia hipertrófica (110). Resta investigar se este valor prognóstico também se aplica à cardiomiopatia associada à AF.

O tempo de vida intracelular da água mostrou-se aumentado nos pacientes com AF em relação aos controles. Na verdade, os valores obtidos sugerem o dobro do tamanho do cardiomiócito, e 4 vezes

a maior área seccional. Esta estimativa da maior área seccional está de acordo com resultados histológicos de estudos prévio (111). Os pacientes com início tardio da doença apresentaram maiores valores de τ_{ic} . A cardiomiopatia na AF geralmente apresenta hipertrofia do cardiomiócito, e em uma fase tardia de “burn-out” possivelmente manifestaria uma regressão para atrofia do VE e possível dilatação do VE. Isso potencialmente explicaria porque os pacientes com diagnóstico precoce, e com longa duração da doença, apresentam tempo de vida da água intracelular menor (18, 112). Modelos animais de AF demonstraram que as miofibrilas estão atroficas e que a hipertrofia cardíaca inicial evoluiu para uma cardiomiopatia dilatada com o início da insuficiência cardíaca (113,114).

τ_{ic} , apresentou correlação negativa com a função neurológica (escore FARS), sugerindo que a hipertrofia cardíaca, que ocorre no início da doença, não acompanha a piora neurológica, que ocorre com a progressão da doença. Já na predição de FARS > mediana, tanto VEC quanto τ_{ic} tiveram um efeito significativo. Como VEC representa uma fração de volume, uma quantidade total fixa de tecido conectivo no interstício miocárdico do VE levará a um menor valor de VEC na presença de hipertrofia do cardiomiócito, comparado com cardiomiócitos de tamanho normal. Isso pode explicar porque VEC, um marcador de fibrose intersticial, pode ser confundido com tamanho do cardiomiócito, em particular durante a fase tardia da doença, quando a fibrose intersticial está completamente estabelecida, mas a plasticidade arquitetural do cardiomiócito ainda ocorre.

O VEC não se associou com a função neurológica. No entanto, o VEC mostrou correlação com a classificação de fenótipo cardíaco de Weidemann et al (18). Uma regressão da hipertrofia do cardiomiócito pode resultar em um aumento do VEC quando a quantidade absoluta de colágeno intersticial permanece relativamente fixa. Uma regressão da hipertrofia do cardiomiócito pode, portanto, tornar-se um fator de confusão na relação do VEC com FARS. Com um ajuste simultâneo do tempo de vida intracelular da água, uma medida absoluta do tamanho do cardiomiócito, VEC aumentou a predição de FARS, no entanto, um estudo prévio (18), com 191 pacientes portadores de AF e cardiomiopatia não encontrou associação entre o acometimento neurológico e cardíaco, baseado

na avaliação de volumes e funções do VE, através de RMC, mas esse estudo prévio não incluiu análise do VEC e/ou tamanho do cardiomiócito.

Nossos achados são consistentes com análises patológicas prévias do coração na AF (111,112, 114) Koeppen et al (111) avaliou dados de 15 pacientes com AF pós óbito e encontrou um padrão geral de hipertrofia concêntrica com redução dos tamanhos ventriculares, com paredes espessas. Microscopicamente, fibrose e deposição de colágeno foram achados frequentes. Havia ainda importante hipertrofia do cardiomiócito. Os autores fizeram hipótese de que tal hipertrofia poderia ser uma resposta adaptativa bastante precoce à perda de fibras, talvez até um problema ligado à formação do músculo cardíaco. Esta hipótese é interessante pois encontra respaldo em dados neurológicos recentemente publicados. Alguns autores consideram que a AF tenha problemas ligados não só à neurodegeneração, mas também ao neurodesenvolvimento. De fato, a lesão da medula espinal da AF é atualmente considerada um misto de processo de desenvolvimento e degeneração (115) – há evidência de que a medula espinal é realmente mais fina do que o normal já ao nascimento (116).

6. Conclusões

1. As manifestações autonômicas cardíacas não são frequentes na AF. Por outro lado, a disfunção sudomotora é prevalente e tem como substrato, pelo menos parcial, o dano às fibras colinérgicas simpáticas pós-ganglionares.
2. A disfunção sudomotora se correlaciona com a gravidade da ataxia, expressa pelos escores da escala FARS.
3. O dano cardíaco na AF se caracteriza por cardiomiopatia hipertrófica, onde estão presentes hipertrofia dos cardiomiócitos e fibrose intersticial. A hipertrofia dos cardiomiócitos se correlaciona de forma direta com a idade de início da doença.
4. A hipertrofia dos cardiomiócitos se correlacionou inversamente com a gravidade da ataxia, expressa pelo escore FARS.

7. Referências Bibliográficas

1. Koeppen AH. Friedreich's ataxia: pathology, pathogenesis and molecular genetics. *J Neurol Sci* 2011;303:1-12.
2. Alper G, Narayanan V. Friedreich's ataxia. *Pediatr Neurol* 2003;28:335-41.
3. Fogel BL, Perlman S. Clinical features and molecular genetics of autosomal recessive cerebellar ataxias. *Lancet Neurol* 2007;6:245-57.
4. Campuzano V, Montermini L, Moltò MD, Pianese L, Cossée M, Cavalcanti F, et al. Friedreich's ataxia: autosomal recessive disease caused by anintrinsic GAA triplet repeat expansion. *Science* 1996;271:1423-7.
5. Pandolfo M. Friedreich ataxia. *Arch Neurol* 2008;65:1296-303.
6. Martinez AR, Moro A, Abrahao A, Faber I, Borges CR, Rezende TJ, Martins CR Jr, Moscovich M, Munhoz RP, Segal SL, Arruda WO, Saraiva-Pereira ML, Karuta S, Pedroso JL, D'Abreu A, Jardim LB, Lopes-Cendes Í, Barsottini OG, Teive HA, França MC Jr. Nonneurological involvement in Late-Onset Friedreich Ataxia (LOFA): Exploring the Phenotypes. *Cerebellum*. 2017;16:253-256.
7. Filla A., De Michele G., Cavalcanti F., Pianese L., Monticelli A., Campanella G., Coccozza S. The relationship between trinucleotide (GAA) repeat length and clinical features in Friedreich ataxia. *Am. J. Hum. Genet.* 1996;59:554–560.
8. Isnard R., Kalotka H., Dürr A., Cossée M., Schmitt M., Pousset F., Thomas D., Brice A., Koenig M., Komajda M. Correlation between left ventricular hypertrophy and GAA trinucleotide repeat length in Friedreich's ataxia. *Circulation*. 1997;95:2247–2249.
9. McDaniel D.O., Keats B., Vedanarayanan V., Subramony S.H. Sequence variation in GAA repeat expansions may cause differential phenotype display in Friedreich's ataxia. *Mov. Disord.* 2001;16:1153–1158.

10. Evans-Galea M.V., Carroddus N., Rowley S.M., Corben L.A., Tai G., Saffery R., Galati J.C., Wong N.C., Craig J.M., Lynch D.R., et al. FXN methylation predicts expression and clinical outcome in Friedreich ataxia. *Ann. Neurol.* 2012;71:487–497.
11. Schmucker S, Puccio H. Understanding the molecular mechanisms of Friedreich's ataxia to develop therapeutic approaches. *Hum Mol Genet* 2010;19:R103-10.
12. Morral JA, Davis AN, Qian J, Gelman BB, Koeppen AH. Pathology and pathogenesis of sensory neuropathy in Friedreich's ataxia. *Acta Neuropathol* 2010;120:97-108.
13. Koeppen AH, Kuntzsch EC, Bjork ST, Ramirez RL, Mazurkiewicz JE, Feustel PJ. Friedreich ataxia: metal dysmetabolism in dorsal root ganglia. *Acta Neuropathol Commum* 2013;1:26.
14. Koeppen AH, Michael SC, Knutson MD, Haile DJ, Qian J, Levi S, et al. The dentate nucleus in Friedreich's ataxia: the role of iron-responsive proteins. *Acta Neuropathol.* 2007;114:163-73.
15. Koeppen AH, Ramirez RL, Yu D, Collins SE, Qian J, Parsons PJ, et al. Friedreich's ataxia causes redistribution of iron, copper and zinc in the dentate nucleus. *Cerebellum* 2012;11:845-60.
16. Tsou A. Y., Paulsen E. K., Lagedrost S. J., Perlman S. L., Mathews K. D., Wilmot G. R., et al. Mortality in Friedreich ataxia. *J. Neurol. Sci* 2011; 307:46–49.
17. Payne RM, Wagner GR. Cardiomyopathy in Friedreich ataxia: clinical findings and research. *J. Child Neurol* 2012;27:1179–1186.
18. Weidemann F., Rummey C., Bijmens B., Stork S., Jasaityte R., Dhooge J., et al. The heart in Friedreich ataxia: definition of cardiomyopathy, disease severity, and correlation with neurological symptoms. *Circulation* 2012;125:1626–1634.
19. Harding AE. Friedreich's ataxia: a clinical and genetic study of 90 families with an analysis of early diagnostic criteria and intrafamilial clustering of clinical features. *Brain* 1981; 104: 589–620.
20. Cnop M, Mulder H, Igoillo-Estevé M. Diabetes in Friedreich ataxia. *J Neurochem.* 2013;126 Suppl 1:94-102.

21. Mateo I, Llorca J, Volpini V, Corral J, Berciano J, Combarros O. GAA expansion size and age at onset of Friedreich's ataxia. *Neurology* 2003;61:274-5.
22. La Pean A, Jeffries N, Grow C, Ravina B, Di Prospero NA. Predictors of progression in patients with Friedreich ataxia. *Mov Disord* 2008;23:2026-32.
23. Lodi R., Hart P. E., Rajagopalan B. et al. Antioxidant treatment improves in vivo cardiac and skeletal muscle bioenergetics in patients with Friedreich's ataxia. *Ann Neurol* 2001;49:590–596.
24. Hart PE, Lodi R, Rajagopalan B et al. Antioxidant treatment of patients with Friedreich ataxia: four-year follow-up. *Arch.Neurol* 2005; 62:621–626.
25. Cooper JM, Korlipara LVP, Hart PE, Bradley JL and Schapira AHV. Coenzyme Q10 and vitamin E deficiency in Friedreich's ataxia: predictor of efficacy of vitamin E and coenzyme Q10 therapy. *Eur J Neurol* 2008;15:1371–1379.
26. Di Prospero NA, Baker A, Jeffries N, Fischbeck KH. Neurological effects of high-dose idebenone in patients with Friedreich's ataxia: a randomized, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol* 2007;6:878-86.
27. Lynch DR, Perlman SL, Meier T. A phase 3, double-blind, placebo-controlled trial of idebenone in Friedreich ataxia. *Arch Neurol* 2010;67:941-7.
28. Lagedrost SJ, Sutton MS, Cohen MS, Satou GM, Kaufman BD, Perlman SL, et al. Idebenone in Friedreich ataxia cardiomyopathy-results from a 6-month phase III study (IONIA). *Am Heart J* 2011;161:639-45.
29. Meier T, Perlman SL, Rummey C, Coppard NJ, Lynch DR. Assessment of neurological efficacy on idebenone in pediatric patients with Friedreich's ataxia: data from a 6-month controlled study followed by a 12-month open-label extension study. *J Neurol* 2012;259:284-91.
30. Li L, Voullaire L, Sandi C, et al. Pharmacological screening using an FXN-EGFP cellular genomic reporter assay for the therapy of Friedreich ataxia. *PLoS ONE* 2013;8:e55910.

31. Sudarsky LR. Validation of a neurological-exam-based rating scale (FARS) for Friedreich's ataxia. *Nat Clin Pract Neurol* 2007;3:138-139.
32. Yiu EM, Tai G, Peverill RE, et al. Na open-label trial in Friedreich ataxia suggest clinical benefit with high-dose resveratrol, without effect on frataxin levels. *J Neurol* 2015;262:1344-1353.
33. Sturm B, Stupphann D, Kaun C, Boesch S, Schranzhofer M, Wojta J, et al. Recombinant human erythropoietin: effects on frataxin expression in vitro. *Eur J Clin Invest* 2005;35:711-7.
34. Sturm B, Helminger M, Steinkellner H, Heidari MM, Goldenberg H, Scheiber-Mojdehkar B. Carbamylated erythropoietin increases frataxin independent from erythropoietin receptor. *Eur J Clin Invest* 2010;40:561-5.
35. Boesch S, Sturm B, Hering S, Scheiber-Mojdehkar B, Steinkellner H, Goldenberg H, et al. Neurological effects of recombinant human erythropoietin in Friedreich's ataxia: a clinical pilot trial. *Mov Disord* 2008;23:1940-4.
36. Subramony SH, May W, Lynch D, Gomez C, Fischbeck K, Hallet M, et al. Measuring Friedreich ataxia: interrater reliability of a neurologic rating scale. *Neurology* 2005;64:1261-2.
37. Nachbauer W, Hering S, Deifert M, Steinkellner H, Sturm B, Scheiber-Mojdehkar B, et al. Effects of erythropoietin on frataxin levels and mitochondrial function in Friedreich ataxia – a dose-responsive trial. *Cerebellum* 2011;10:763-9.
38. Mariotti C, Fancellu R, Caldarazzo S, Nanetti L, Di Bella D, Plumari M, et al. Erythropoietin in Friedreich ataxia: no effect on frataxin in a randomized controlled trial. *Mov Disord* 2012;27:446-9.
39. Boddaert N, Sang KHLQ, Rötig A, Leroy-Willig A, Gallet S, Brunelle F, et al. Selective iron chelation in Friedreich ataxia: biologic and clinical implications. *Blood* 2007;110:401-8.
40. Velasco-Sánchez D, Aracil A, Montero R, Mas A, Jiménez L, O'Callaghan M, et al. Combined therapy with Idebenone and Deferiprone in patients with Friedreich's Ataxia. *Cerebellum*. 2011;10:1-8.

41. Sanz-Gallego I, Torres-Aleman I, Aroa J. IGF-1 in Friedreich's ataxia – proof-of-concept trial. *Cerebellum Ataxias* 2014;1:10.
42. Schmitz-Hübsch T, du Montcel ST, Baliko L, Berciano J, Boesch S, Depondt C, Giunti P, Globas C, Infante J, Kang JS, Kremer B, Mariotti C, Melegh B, Pandolfo M, Rakowicz M, Ribai P, Rola R, Schöls L, Szymanski S, van de Warrenburg BP, Dürr A, Klockgether T, Fancellu R. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology* 2006;67(2):299.
43. Libri V, Yandim C, Athanasopoulos S, et. Al. Epigenetic and neurological effects and safety of high-dose nicotinamide in patients with Friedreich ataxia: an exploratory, open-label, dose escalation study. *Lancet* 2014;384:504-513.
44. Seyer L, Greeley N, Foerster D, Strawser C, Gelbard S, Dong Y, Schadt K, Cotticelli MG, Brocht A, Farmer J, Wilson RB, Lynch DR. Open-label pilot study of interferon gamma-1b in Friedreich ataxia. *Acta Neurol Scand* 2015;132:7-15.
45. Costantini A, Giorgi R, D'Agostino S, Pala MI. High dose thiamine improves the symptoms of Friedreich's ataxia. *BMJ Case Rep.* 2013 May 22;2013
46. Mariotti C, Nachbauer W, Panzeri M, Poewe W, Taroni F, Boesch S. Erythropoietin in Friedreich ataxia. *J Neurochem* 2013;126(Suppl1):80-7.
47. Friedman LS, Farmer JM, Perlman S, Wilmot G, Gomez CM, Bushara KO, et al. Measuring the rate of progression in Friedreich ataxia: implications for clinical trial design. *Mov Disord* 2010;25:426-32.
48. Reetz K, Dogan I, Hohenfeld C, Didszun C, Giunti P, Mariotti C, Dürr A, Boesch S, Klopstock T, Rodríguez de Rivera Garrido FJ, Schöls L, Giordano I, Bürk K, Pandolfo M, Schulz JB; EFACTS Study Group. Nonataxia symptoms in Friedreich Ataxia: Report from the Registry of the

European Friedreich's Ataxia Consortium for Translational Studies (EFACTS). *Neurology* 2018;91:e917-e930.

49. Schulz JB, Boesch S, Burk K, Durr A, Giunti P, Mariotti C, Pousset F, Schols L, Vankan P, Pandolfo M. Diagnosis and treatment of Friedreich ataxia: a European perspective. *Nat Rev Neurol* 2009;5:222–234.

50. Durr A, Cossee M, Agid Y, Campuzano V, Mignard C, Penet C, Mandel JL, Brice A, Koenig M. Clinical and genetic abnormalities in patients with Friedreich's ataxia. *N Engl J Med* 1996;335:1169–1175.

51. Mottram PM, Delatycki MB, Donelan L, Gelman JS, Corben L, Peverill RE. Early changes in left ventricular long-axis function in Friedreich ataxia: relation with the FXN gene mutation and cardiac structural change. *J Am Soc Echocardiogr* 2011;24:782–789.

52. Shields, RW Jr. Functional anatomy of the autonomic nervous system. *J Clin Neurophysiol* 1993;10:2-13.

53. Vinik A. I, Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Circulation* 2011; 115:387-397.

54. Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF. The natural history of diabetic autonomic neuropathy. *Q J Med* 1980;49:95-108.

55. Verbaan D, Marinus J, Visser M, van Rooden SM, Stiggelbout AM, van Hilten JJ. Patient-reported autonomic symptoms in Parkinson disease. *Neurology* 2007;69:333-41.

56. Takazaki KA, D'Abreu A, Nucci A, Lopes-Cendes I, França MC Jr. Dysautonomia is frequent in Machado-Joseph disease: clinical and neurophysiological evaluation. *Cerebellum* 2013;12:513-9.

57. Yeh TH, Lu CS, Chou YH, Chong CC, Wu T, Han NH et al. Autonomic dysfunction in Machado-Joseph disease. *Arch Neurol* 2005;62:630-636.

58. França Jr MC, D'Abreu A, Nucci A, Lopes-Cendes I. Clinical correlates of autonomic dysfunction in patients with Machado-Joseph disease. *Acta Neurol Scand* 2010;121:422-425.

59. Netravathi M, Sathyaprabha TN, Jayalaxmi K, Datta P, Nirmala M, Pal, PK. A comparative study of cardiac dysautonomia in autosomal dominant spinocerebellar ataxias and idiopathic sporadic ataxias. *Acta Neurol Scand* 2009;12:204-9.
60. Pradhan C, Yashavanya BS, Pal PK, Sathyaprabha TN. Spinocerebellar ataxias type 1, 2 and 3: a study of heart rate variability. *Acta Neurol Scand* 2008;117:337-42.
61. Ingall TJ, McLeod JG. Autonomic function in Friedreich's ataxia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991;54:162-164.
62. Pousset F, Kalotka H, Durr A, Isnard R, Lechat P, Le Heuzey JY et al. Parasympathetic activity in Friedreich's ataxia. *Am J Cardiol* 1996;78:847-850.
63. Indelicato E, Fanciulli A, Ndayisaba JP, Nachbauer W, Eigentler A, Granata R, Wanschitz J, Poewe W, Wenning GK, Boesch S. Autonomic function testing in Friedreich's ataxia. *J Neurol* 2018;265:2015-2022.
64. Schlereth T, Brosda N, Birklein F. Spreading of sudomotor axon reflexes in human skin. *Neurology* 2005; 64:1417-1421.
65. Ravits JM. AAEM Minimonograph #48: Autonomic nervous System testing. *Muscle Nerve* 1997;20:919-937.
66. Chirumamilla A, Travin MI. Cardiac applications of 123I-mIBG imaging. *Semin Nucl Med* 2011;41:374-87.
67. Weimer L. H. Autonomic testing. Common techniques and clinical applications. *The Neurologist* 2010; 16:215-221.
68. Task force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996;93:1043-1065.
69. Julio MB, Gilberto SC, Andres MG, Mario EB, Luis VP. Heart rate variability in type 2 spinocerebellar ataxia. *Acta Neurol Scand* 2010;122:329-35.

70. Michael S, Petrocine SV, Qian J, et al. Iron and iron-responsive proteins in the cardiomyopathy of Friedreich's ataxia. *Cerebellum* 2006;5:257-267.
71. Wong A, Yang J, Cavadini P, et al. The Friedreich's ataxia mutation confers cellular sensitivity to oxidant stress which is rescued by chelators of iron and calcium and inhibitors of apoptosis. *Hum Mol Genet* 1999;8:425-430.
72. Navarro JA, Ohmann E, Sanchez D, et al. Altered lipid metabolism in a *Drosophila* model of Friedreich's ataxia. *Hum Mol Genet* 2010;19:2828-2840.
73. Rajagopalan B, Francis JM, Cooke F, et al. Analysis of the factors influencing the cardiac phenotype in Friedreich's ataxia. *Mov Disord* 2010;25:846-852.
74. Vyas PM, Tomamichel WJ, Pride PM, et al. A TAT-Frataxin fusion protein increases lifespan and cardiac function in a conditional Friedreich's ataxia mouse model. *Hum Mol Genet* 2012;21:1230-1247.
75. Lodi R, Rajagopalan B, Blamire AM, et al. Cardiac energetics are abnormal in Friedreich ataxia patients in the absence of cardiac dysfunction and hypertrophy: an in vivo ³¹P magnetic resonance spectroscopy study. *Cardiovasc Res* 2001;52:111-119.
76. Raman SV, Phatak K, Hoyle JC, et al. Impaired myocardial perfusion reserve and fibrosis in Friedreich ataxia: a mitochondrial cardiomyopathy with metabolic syndrome. *Eur Heart J* 2011; 32:561-567.
77. Raman SV, Dickerson JA, Al-Dahhak R. Myocardial ischemia in the absence of epicardial coronary artery disease in Friedreich's ataxia. *J Cardiovasc Magn Reson* 2008;10:15.
78. Regner SR, Lagedrost SJ, Plappert T, et al. Analysis of echocardiograms in a large heterogeneous cohort of patients with Friedreich ataxia. *Am J Cardiol* 2012;109:401-405.
79. Meyer C, Schmid G, Gorlitz S, Ernst M, Wilkens C, Wilhelms I, Kraus PH, Bauer P, Tomiuk J, Przuntek H, Mugge A, Schols L. Cardiomyopathy in Friedreich's ataxia: assessment by cardiac MRI. *Mov Disord* 2007;22:1615–1622.

80. Weidemann F, Liu D, Hu K, Florescu C, Niemann M, Hermann S, Kramer B, Klebe S, Doppler K, Uçeyler N, Ritter CO, Erti G, Stork S. The cardiomyopathy in Friedreich's ataxia – New biomarker for staging cardiac involvement. *Int J Cardiol* 2015 Sep 1;194:50-7.
81. Todiere G, Aquaro GD, Piaggi P et al. Progression of myocardial fibrosis assessed with cardiac magnetic resonance in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:922-9.
82. Messroghli DR, Moon JC, Ferreira VM et al. Clinical recommendations for cardiovascular magnetic resonance mapping of T1, T2, T2* and extracellular volume: A consensus statement by the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance (SCMR) endorsed by the European Association for Cardiovascular Imaging (EACVI). *J Cardiovasc Magn Reson* 2017;19:75.
83. Coelho-Filho OR, Shah RV, Mitchell R et al. Quantification of cardiomyocyte hypertrophy by cardiac magnetic resonance: implications for early cardiac remodeling. *Circulation* 2013;128:1225-33.
84. Coelho-Filho OR, Shah RV, Neilan TG et al. Cardiac magnetic resonance assessment of interstitial myocardial fibrosis and cardiomyocyte hypertrophy in hypertensive mice treated with spironolactone. *J Am Heart Assoc* 2014;3:e000790.
85. Kim RJ, Wu E, Rafael A, Chen EL, Parker MA, Simonetti O, et al. The use of contrast-enhanced magnetic resonance imaging to identify reversible myocardial dysfunction. *N Engl J Med* 2000;343:1445-53.
86. Kim RJ, Fieno DS, Parrish TB, Harris K, Chen EL, Simonetti O, et al. Relationship of MRI delayed contrast enhancement to irreversible injury, infarct age, and contractile function. *Circulation* 1999;100:1992-2002.
87. Tandri H, Saranathan M, Rodriguez ER, Martinez C, Bomma C, Nasir K, et al. Noninvasive detection of myocardial fibrosis in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy using delayed-enhancement magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:98-103.
88. Hunold P, Wieneke H, Bruder O, Krueger U, Schlosser T, Erbel R, et al. Late

enhancement: a new feature in MRI of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy? J

Cardiovasc Magn Reson 2005;7:649-55.

89. Iles L, Pfluger H, Phrommintikul A, Cherayath J, Aksit P, Gupta SN, et al. Evaluation of diffuse myocardial fibrosis in heart failure with cardiac magnetic resonance contrast-enhanced T1 mapping. J Am Coll Cardiol 2008;52:1574-80.

90. Ellinor PT, Sasse-Klaassen S, Probst S, Gerull B, Shin JT, Toepfel A, et al. A novel locus for dilated cardiomyopathy, diffuse myocardial fibrosis, and sudden death on chromosome 10q25-26. J Am Coll Cardiol 2006;48:106-11.

91. Kehr E, Sono M, Chugh SS, Jerosch-Herold M. Gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging for detection and quantification of fibrosis in human myocardium in vitro. Int J Cardiovasc Imaging 2008;24:61-8.

92. Flett AS, Hayward MP, Ashworth MT, Hansen MS, Taylor AM, Elliott PM, et al. Equilibrium contrast cardiovascular magnetic resonance for the measurement of diffuse myocardial fibrosis: preliminary validation in humans. Circulation 2010;122:138-44.

93. Coelho-Filho, OR. Characterization of both interstitial fibrosis and cardiomyocyte hypertrophy by cardiac magnetic resonance. 2013. Dissertação (Doutorado em Medicina) – Universidade de Campinas.

94. Flacke SJ, Fischer SE, Lorenz CH. Measurement of the gadopentetate dimeglumine partition coefficient in human myocardium in vivo: normal distribution and elevation in acute and chronic infarction. Radiology 2001;218:703-10.

95. Thornhill RE, Prato FS, Wisenberg G, White JA, Nowell J, Sauer A. Feasibility of the single-bolus strategy for measuring the partition coefficient of Gd-DTPA in patients with myocardial infarction: independence of image delay time and maturity of scar. Magn Reson Med 2006;55:780-9.

96. Kajstura J, Zhang X, Reiss K, Szoke E, Li P, Lagrasta C, Cheng W, Darzynkiewicz Z,

- Olivetti G, Anversa P. Myocyte cellular hyperplasia and myocyte cellular hypertrophy contribute to chronic ventricular remodeling in coronary artery narrowing-induced cardiomyopathy in rats. *Circ Res* 1994;74:383-400.
97. Landis CS, Li X, Telang FW, Molina PE, Palyka I, Vetek G and Springer CS, Jr. Equilibrium transcytolemmal water-exchange kinetics in skeletal muscle in vivo. *Magnetic resonance in medicine*. 1999;42:467-78.
98. Pais A. "Subtle is the Lord-- ": the science and the life of Albert Einstein. Oxford Oxfordshire ; New York: Oxford University Press; 1982.
99. Carod-Artal FJ, Ribeiro LS, Kummer W, Martinez-Martin P. Psychometric properties of the SCOPA-AUT Brazilian Portuguese Version. *Mov Disord* 2010;25:205-212.
100. Koyama Y, Asahina M, Honma K, Arai K, Hattori T. Altered heart rate control in response to postural change in patients with Machado-Joseph disease (SCA3). *Cerebellum* 2009;8:130-6.
101. Asahina M, Katagiri A, Yamanaka Y, Akaogi Y, Fukushima T, Kanai K, Kuwabara S. Spectral analysis of heart rate variability in patients with Machado-Joseph disease. *Auton Neurosci* 2010;154:99-101.
102. Neilan TG, Coelho-Filho OR, Shah RV et al. Myocardial extracellular volume fraction from T1 measurements in healthy volunteers and mice: relationship to aging and cardiac dimensions. *JACC Cardiovasc Imaging* 2013;6:672-83.
103. Coelho-Filho OR, Shah R, Lavagnoli CF et al. Myocardial tissue remodeling after orthotopic heart transplantation: a pilot cardiac magnetic resonance study. *The international journal of cardiovascular imaging* 2016.
104. Schöls L, Bauer P, Schmidt T, Schulte T, Riess O. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics and pathogenesis. *Lancet Neurol* 2004; 3: 291-304.

105. El-Saiedi SA, Seliem ZS, Esmail RI. Hypertrophic cardiomyopathy: prognostic factors and survival analyses in 128 egyptian patients. *Cardiol Young* 2014;24:702-708.
106. Kawasaki T, Sakai C, Harimoto K, Yamano M, Miki S, Kamitani T et al. Holter monitoring and long-term prognosis in hypertrophic cardiomyopathy. *Cardiology* 2012;122:44-54.
107. Gupta S, Amanullah A. Radionuclide imaging of cardiac sympathetic innervation in heart failure: unlocking untapped potential. *Heart Fail Rev* 2015;20:215-226.
108. Nolano M, Provitera V, Crisci C, Saltalamacchia AM, Wendelschafer-Crabb G, Kennedy WR et al. Small fibers involvement in Friedreich's ataxia. *Ann Neurol* 2001;50:17-25.
109. Poulsen SH, Sogaard P, Nielsen-Kudsk JE, Egeblad H. Dilated cardiomyopathy in Friedreich's ataxia: 2D echo and tissue-Doppler analysis of left ventricular and atrial function. *European journal of echocardiography : the journal of the Working Group on Echocardiography of the European Society of Cardiology* 2003;4:331-3.
110. Chan RH, Maron BJ, Olivotto I et al. Prognostic value of quantitative contrast-enhanced cardiovascular magnetic resonance for the evaluation of sudden death risk in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2014;130:484-95.
111. Koeppen AH, Ramirez RL, Becker AB et al. The pathogenesis of cardiomyopathy in Friedreich ataxia. *PLoS One* 2015;10:e0116396.
112. Perdomini M, Belbellaa B, Monassier L et al. Prevention and reversal of severe mitochondrial cardiomyopathy by gene therapy in a mouse model of Friedreich's ataxia. *Nature medicine* 2014;20:542-7.
113. Puccio H, Simon D, Cossee M et al. Mouse models for Friedreich ataxia exhibit cardiomyopathy, sensory nerve defect and Fe-S enzyme deficiency followed by intramitochondrial iron deposits. *Nature genetics* 2001;27:181-6.

114. Kruger PC, Yang KX, Parsons PJ, Becker AB, Feustel PJ, Koeppen AH. Abundance and Significance of Iron, Zinc, Copper, and Calcium in the Hearts of Patients With Friedreich Ataxia. *Am J Cardiol* 2016;118:127-31.
115. Mascalchi M, Bianchi A, Ciulli S et al. Lower medulla hypoplasia in Friedreich ataxia: MR Imaging confirmation 140 years later. *J Neurol* 2017;264:1526-1528.
116. Manto M, Pandolfo M. The cerebellum and its disorders. Cambridge, U.K.; New York, NY, USA: Cambridge University Press, 2002.

8. ANEXOS

1. Formulário de consentimento estudo função autonômica

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto pesquisa: Disautonomia na Ataxia de Friedreich

Investigador principal: Drs. Karen A. G. Takazaki, Marcondes C. França Jr e Anamarli Nucci

OBJETIVO DA PESQUISA:

Eu entendo que fui convidado (a) a participar em um projeto de pesquisa envolvendo pacientes e famílias de indivíduos com Ataxia de Friedreich. O objetivo geral do estudo é o de avaliar o sistema nervoso autônomo dos pacientes com ataxia de Friedreich. Esses estudos poderão levar a identificação de distúrbios do sistema nervoso autônomo na doença da qual sou portador. Além de levantar dados que possibilitarão um conhecimento mais aprofundado da ataxia de Friedreich. Tanto os testes de avaliação autonômica realizados quanto as informações médicas a meu respeito, bem como a respeito de minha família que forem obtidas para esse estudo, poderão ser compartilhadas com outros pesquisadores que trabalham com ataxia de Friedreich. Podendo assim ser utilizadas eventualmente para outros fins de pesquisa sobre ataxia de Friedreich. O sigilo será mantido em todos os estudos colaborativos através da utilização de um número de código para a identificação dos indivíduos participantes.

PROCEDIMENTO:

Eu entendo que se concordar em participar desse estudo, os pesquisadores participantes farão perguntas a respeito dos meus antecedentes médicos e familiares. Eu serei submetido a um exame físico neurológico para confirmar meu estado clínico. Realizarei exames de avaliação da função do sistema nervoso autônomo. Hospitalização não será necessária. Os procedimentos mencionados acima fazem parte dos cuidados médicos de rotina para um paciente com ataxia de Friedreich. Os procedimentos mencionados acima serão realizados dentro do primeiro ano após o meu consentimento em participar no estudo.

RISCO E DESCONFORTO:

Será realizado exame de eletrocardiograma prolongado (5 minutos) e estudo do reflexo axonal sudomotor quantitativo. Os riscos envolvidos neste procedimento são mínimos, podendo ocorrer leve vermelhidão e desconforto pela injeção de acetilcolina na pele no segundo procedimento.

VANTAGENS:

Eu entendo que poderei obter vantagem direta com a minha participação nesse estudo e que o meu diagnóstico e o meu tratamento poderão ser modificados.

SIGILO:

Eu entendo que toda informação médica, assim como os resultados dos testes de avaliação autonômica decorrentes desse projeto de pesquisa, farão parte do meu prontuário médico e serão submetidos aos regulamentos do HC- UNICAMP referentes ao sigilo da informação médica.

Se os resultados ou informações fornecidas forem utilizados para fins de publicação científica, nenhum nome será utilizado.

FORNECIMENTO DE INFORMAÇÃO ADICIONAL:

Eu entendo que posso requisitar informações adicionais relativas ao estudo a qualquer momento. A Dra. Karen A. Giroto Takazaki, tel 19-3521-7754, ou Dr Marcondes C. França Jr, tel 19-3521-7754, estarão disponíveis para responder minhas questões e preocupações. Em caso de recurso, dúvidas ou reclamações devo entrar em contato com a secretaria da comissão de ética da Faculdade de Ciências Médicas-UNICAMP, tel.19 3521-8938.

RECUSA OU DESCONTINUAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO:

Eu entendo que a minha participação é voluntária e que eu posso me recusar a participar ou retirar meu consentimento e interromper a minha participação no estudo a qualquer momento sem comprometer os cuidados médicos que recebo atualmente ou receberei no futuro no HC- UNICAMP. Eu reconheço também que a Dra . Karen A. Giroto Takazaki ou Dr Marcondes Cavalcante França Jr podem interromper a minha participação nesse estudo a qualquer momento que julgarem apropriado.

Eu confirmo que o(a) Dr(a)._____me explicou o objetivo do estudo, os procedimentos aos quais serei submetido e os riscos, desconforto e possíveis vantagens advindas desse projeto de pesquisa. Eu li e compreendi esse formulário de consentimento e estou de pleno acordo em participar desse estudo.

Nome do participante ou responsável

Assinatura do participante ou responsável

data

Nome da testemunha

Assinatura da testemunha

data

RESPONSABILIDADE DO PESQUISADOR:

Eu expliquei a _____
o objetivo do estudo, os procedimentos requeridos e os possíveis riscos e vantagens que poderão
advir do estudo, usando o melhor do meu conhecimento. Eu me comprometo a fornecer uma cópia
desse formulário de consentimento ao participante ou responsável.

Nome do pesquisador ou associado

Assinatura do pesquisador ou associado

data

2. Termo de consentimento estudo de Ressonância Cardíaca

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO: PACIENTES

Título do projeto: **Avaliação da miocardiopatia na Ataxia de Friedreich utilizando Ressonância magnética e Espectroscopia Funcional**

Investigador principal: Thiago Dias Venancio e Dr Marcondes C França Jr.

OBJETIVO DA PESQUISA:

Eu _____ entendo que fui convidado (a) a participar em um projeto de pesquisa envolvendo pacientes com ataxia de Friedreich. O objetivo geral do estudo é usar a imagem por Ressonância Magnética e de Espectroscopia Óptica nesta doença. Identificar e medir as anormalidades no coração podem, eventualmente, melhorar o diagnóstico e levar a um melhor tratamento dessa doença. (para a seção de sigilo)

A ressonância magnética é uma técnica capaz de produzir imagens de alta qualidade, assim como informações sobre os tecidos. A ressonância magnética produz imagens em cortes que são parecidos com as imagens produzidas pela tomografia computadorizada, porém com maior resolução (nitidez) e sem a exposição aos raios X.

A Espectroscopia Óptica (chamada de NIRS) é uma técnica que utiliza uma fraca luz infravermelha e vermelha para medir o nível de oxigênio no sangue ao longo do tempo na região por onde a luz passa. A técnica não produz imagens mas é muito sensível às mudanças de concentração da hemoglobina. Seu uso trará informações sobre a oxigenação de um músculo durante uma leve atividade física.

Esses dados também irão produzir informações bioquímicas que serão úteis para melhor definição do diagnóstico e tratamento. O objetivo principal desse estudo é determinar a importância dessas informações bioquímicas e estruturais.

PROCEDIMENTO:

Eu entendo que se concordar em participar desse estudo, os pesquisadores participantes farão perguntas a respeito dos meus antecedentes médicos e de minha família. Eu serei submetido a um exame físico neurológico para estabelecer meu estado clínico. Hospitalização não será necessária.

O procedimento de ressonância magnética é semelhante a uma tomografia. Eu fui informado que eu serei colocado em uma maca e serei movido lentamente para dentro do aparelho de ressonância magnética. Um alto falante dentro do campo magnético possibilita a minha constante comunicação com as pessoas responsáveis pelo exame. Durante todo o tempo o pessoal médico e paramédico pode me ver e ouvir, e eu posso ser removido(a) se for preciso; por exemplo, se durante o exame eu me sentir mal ou com claustrofobia. O procedimento pode durar entre 45 a 90 minutos. Durante o exame eu irei ouvir ruídos, tipo marteladas, enquanto o aparelho faz as imagens do meu coração.

O procedimento de NIRS, será feito no mesmo dia da ressonância, mas numa sala separada do Laboratório de Física-Medicado Hospital. Enquanto estou sentado será colocado um detector que emite e recebe uma luz infravermelha e vermelha sobre o meu braço. O detector deve ser fixado

Rúbrica Participante:

Rúbrica Pesquisador:

usando algumas faixas de velcro e isso pode causar um pequeno desconforto. Após a colocação do detector será feita uma calibração, e então terei que ficar em descanso por 4 minutos. Logo após, pedirão para que faça um movimento com o braço até cansar, seguido de mais 4 minutos de descanso.

BENEFÍCIOS:

Minha participação no estudo poderá permitir um diagnóstico mais precoce de alterações no coração e isto poderá modificar meu tratamento médico. Além disso, os resultados desse estudo podem, a longo prazo, oferecer vantagens para os indivíduos com Ataxia de Friedreich, possibilitando um melhor entendimento da doença. Os resultados do meu exame de ressonância magnética ficarão à disposição dos médicos responsáveis pelo meu tratamento, e poderão ser úteis no futuro.

RISCO E DESCONFORTO:

O único desconforto relacionado ao exame de ressonância magnética é o ruído intermitente durante os primeiros 15 minutos. Depois disso o ruído será muito menor. O pessoal técnico providenciará tapa-ouvidos para me deixar mais confortável. O exame será realizado com o uso de contraste (gadolínio), aplicado por via venosa. Este contraste é seguro, aprovado pela ANVISA sob registro: 149800016 e utilizado de rotina e com risco muito pequeno de desencadear reações alérgicas.

Uma das principais vantagens da ressonância magnética é que esta não utiliza raios X ou outro tipo de radiação ionizante, ao contrário de outros tipos de exame radiológicos. As imagens são obtidas graças a um campo magnético (ímã), um transmissor e receptor de ondas de rádio e um computador que é utilizado para obter as informações bioquímicas e imagens da anatomia interna. Não existem efeitos nocivos associados com a ressonância magnética dentro das condições utilizadas atualmente.

O equipamento de NIRS também não apresenta riscos a saúde e estou ciente de que posso sentir um pequeno desconforto devido a colocação dos medidores sobre minha pele.

CUSTOS:

A aquisição dos exames de ressonância no mesmo dia da consulta dos pacientes portanto não implicará em custos adicionais aos participantes. Assim não vai haver nenhuma forma de reembolso de dinheiro, já que com a participação na pesquisa não haverá nenhum gasto.

REQUERIMENTOS:

É muito importante informar aos médicos(as) e técnicos(as) caso eu tenha um **marca-passo cardíaco, um clipe de cirurgia para aneurisma cerebral ou qualquer outro objeto metálico em meu corpo**, que tenha sido implantado durante uma cirurgia ou alojado em meu corpo durante um acidente, pois estes podem parar de funcionar ou causar acidentes devido ao forte campo magnético da Ressonância Magnética que funciona como um ímã muito forte. No momento do exame de Ressonância Magnética eu também devo remover todos os objetos metálicos que estiverem comigo (relógio, canetas, brincos, colares, anéis, etc), pois estes também podem movimentar ou aquecer dentro do campo magnético.

Rúbrica Participante:

Rúbrica Pesquisador:

SIGILO:

Eu entendo que todas as informações médicas decorrentes desse projeto de pesquisa farão parte do meu prontuário médico e serão submetidos aos regulamentos do HC- UNICAMP referentes ao sigilo da informação médica. Elas poderão ser compartilhadas com outros pesquisadores que trabalham com diversos tipos de doenças neurodegenerativas, podendo, assim, ser utilizadas, eventualmente, para outros fins de pesquisa sobre ataxias. O sigilo será mantido em todos os estudos colaborativos através da utilização de um número de código para a identificação dos indivíduos participantes. Se os resultados ou informações fornecidas forem utilizados para fins de publicação científica, nenhum nome será utilizado.

FORNECIMENTO DE INFORMAÇÃO ADICIONAL:

Eu entendo que posso requisitar informações adicionais relativas ao estudo a qualquer momento. O Dr. Marcondes França, tel (019)3521-9217 e ao pesquisador Thiago Dias Venancio, tel (019) 3521-8246 estará disponível para responder minhas questões e preocupações. Em caso de recurso, denúncias, dúvidas ou reclamações contactar a secretaria da Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Médicas:

Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126 – CEP 13083-887 Campinas – SP

Fone (019) 3521-8936 ou 3521-7187 e-mail: cep@fcm.unicamp.br

RECUSA OU DESCONTINUAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO:

Eu entendo que a minha participação é voluntária e que eu posso me recusar a participar ou retirar meu consentimento e interromper a minha participação no estudo a qualquer momento sem comprometer os cuidados médicos que recebo atualmente ou receberei no futuro no HC-UNICAMP.

TERMO DE CONSENTIMENTO:

Eu confirmo que o(a) Dr(a). _____ me explicou o objetivo do estudo, os procedimentos aos quais serei submetido e os riscos, desconforto e possíveis vantagens advindas desse projeto de pesquisa. Eu li e compreendi esse formulário de consentimento e estou de pleno acordo em participar desse estudo.

Nome do participante ou responsável

Assinatura do participante ou responsável

data

Rúbrica Participante:

Rúbrica Pesquisador:

RESPONSABILIDADE DO PESQUISADOR:

Eu expliquei a _____ o objetivo do estudo, os procedimentos requeridos e os possíveis riscos e vantagens que poderão advir do estudo, usando o melhor do meu conhecimento. Eu me comprometo a fornecer uma cópia desse formulário de consentimento ao participante ou responsável.

Nome do pesquisador ou associado

Assinatura do pesquisador ou associado

data

Rúbrica Participante:

Rúbrica Pesquisador:

3. Protocolo de estudo

PROTOCOLO-AVALIAÇÃO AUTONÔMICA- A. FRIEDREICH

1. IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____

Sexo: ()F ()M Idade: _____

HC: _____ TEL: _____

Data: ____/____/____ Peso: _____Kg

Altura: _____m Escolaridade: _____

Tempo de doença: _____

Diagnóstico: _____

Medicações em uso: _____

2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:

A) Aspectos Genéticos:

1. Tamanho da expansão GAA: GAA1 _____ GAA2 _____

2. Genótipo: Homozigoto (0) Heterozigoto duplo (1)

B) Idade maior que 18 anos.

3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:

A) Uso de medicação com ação no SNA:

()B-bloqueador ()Tricíclicos () α -metildopa ()Prazosin ()Anti-histamínicos

()Diuréticos ()Fludrocortisona

B) Possui diabetes mellitus?

()Sim ()Não

B.1.) Outras doenças neurológicas?

()Sim ()Não

C) Exclusão de outras doenças:

()Arritmia ()DPOC ()Alcoolismo ()Cardiopatia ()Simpatectomia

D) Condições para avaliação autonômica:

()Jejum 12 hs ()Álcool ()Cafeína ()Nicotina ()Medicação_____

4- ESCALA- FARS:

I. FUNCTIONAL STAGING FOR ATAXIA

Increment by 0.5 may be used if the status is about the middle between two stages.

STAGE

STAGE 0: Normal.

STAGE 1.0: Minimal signs detected by physician during screening. Can run or jump without loss of balance. No disability.

STAGE 2.0: Symptoms present, recognized by patient, but still mild. Cannot run or jump without losing balance. The patient is physically capable of leading an independent life, but daily activities may be somewhat restricted. Minimal disability.

STAGE 3.0: Symptoms are overt and significant. Requires regular or periodic holding onto wall/furniture or use of a cane for stability and walking. Mild disability. (Note: many patients postpone obtaining a cane by avoiding open spaces and walking with the aid of walls/ people etc. These patients are grades as stage 3.0)

STAGE 4.0: Walking requires a walker, Canadian crutches or two canes. Or other aids such as walking dogs. Can perform several activities of daily living. Moderate disability.

STAGE 5.0: Confined but can navigate a wheelchair. Can perform some activities of daily living that do not require standing or walking. Severe disability.

STAGE 6.0: Confined to wheelchair or bed with total dependency for all activities of daily living. Total disability.

II. ACTIVITIES OF DAILY LIVING (increments of 0.5 may be used if strongly felt that a task falls between 2 scores)

1. Speech

- 0 - Normal
- 1 - Mildly affected. No difficulty being understood.
- 2 - Moderately affected. Sometimes asked to repeat statements.
- 3 - Severely affected. Frequently asked to repeat statements.
- 4 - Unintelligible most of the time.

2. Swallowing

- 0 - Normal.
- 1 - Rare choking (< once a month).
- 2 - Frequent choking (< once a week, > once a month).
- 3 - Requires modified food or chokes multiple times a week. Or patient avoids certain foods.
- 4 - Requires NG tube or gastrostomy feedings.

3. Cutting Food and Handling Utensils

- 0 - Normal.
- 1 - Somewhat slow and clumsy, but no help needed.
- 2 - Clumsy and slow, but can cut most foods with some help needed. Or needs assistance when in a hurry.
- 3 - Food must be cut by someone, but can still feed self slowly.
- 4 - Needs to be fed.

4. Dressing

- 0 - Normal.
- 1 - Somewhat slow, but no help needed.
- 2 - Occasional assistance with buttoning, getting arms in sleeves, etc. or has to modify activity in some way (e.g. Having to sit to get dressed; use velcro for shoes, stop wearing ties, etc.).
- 3 - Considerable help required, but can do some things alone.
- 4 - Helpless.

5. Personal Hygiene

- 0 - Normal.
- 1 - Somewhat slow, but no help needed.
- 2 - Very slow hygienic care or has need for devices such as special grab bars, tub bench, shower chair, etc.
- 3 - Requires personal help with washing, brushing teeth, combing hair or using toilet.
- 4 - Fully dependent

6. Falling (assistive device = score 3)

- 0 - Normal.
- 1 - Rare falling (< once a month).
- 2 - Occasional falls (once a week to once a month).
- 3 - Falls multiple times a week or requires device to prevent falls.
- 4 - Unable to stand or walk.

7. Walking (assistive device = score 3)

- 0 - Normal.
- 1 - Mild difficulty, perception of imbalance.
- 2 - Moderate difficulty, but requires little or no assistance.
- 3 - Severe disturbance of walking, requires assistance or walking aids.
- 4 - Cannot walk at all even with assistance (wheelchair bound).

8. Quality of Sitting Position

- 0 - Normal.
- 1 - Slight imbalance of the trunk, but needs no back support.
- 2 - Unable to sit without back support.
- 3 - Can sit only with extensive support (Geriatric chair, posy, etc.).
- 4 - Unable to sit.

9. Bladder Function (if using drugs for bladder, automatic score of 3)

- 0 - Normal.
- 1 - Mild urinary hesitance, urgency or retention (< once a month).
- 2 - Moderate hesitance, urgency, rare retention/incontinence (> once a month, but < once a week).
- 3 - Frequent urinary incontinence (> once a week).
- 4 - Loss of bladder function requiring intermittent catheterization/indwelling catheter.

TOTAL ACTIVITIES OF DAILY LIVING SCORE:

III. NEUROLOGICAL EXAMINATION (rate each item on the basis of the patient status during examination. To the extent possible, sequential patient examinations should be carried out at the same time of the day. If the patient is taking any medication, the examination should be carried out prior to dosing, or at a fixed time following the dosing based on the maximum expected therapeutic response. Increments of 0.5 may be used if examiner feels an item falls between 2 defined severities)

A. BULBAR

1. Facial Atrophy, Fasciculation, Action Myoclonus, and Weakness:

- 0 - None
- 1 - Fasciculations or action myoclonus, but no atrophy.
- 2 - Atrophy present but not profound or complete.
- 3 - Profound atrophy and weakness.

2. Tongue Atrophy, Fasciculation, Action Myoclonus and Weakness:

- 0 - None.
- 1 - Fasciculations or action myoclonus, but no atrophy.
- 2 - Atrophy present but not profound or complete.
- 3 - Profound atrophy and weakness.

3. Cough: (Patient asked to cough forcefully 3 times)

- 0 - Normal.
- 1 - Depressed.
- 2 - Totally or nearly absent.

4. Spontaneous Speech (ask the patient to read or repeat the sentences "The President lives in the White House" or "The traffic is heavy today":

- 0 - Normal.
- 1 - Mild (all or most words understandable).
- 2 - Moderate (most words not understandable).
- 3 - Severe (no or almost no useful speech).

TOTAL BULBAR SCORE:

B. UPPER LIMB COORDINATION

1. **Finger to Finger Test** (The index fingers are placed in front of each other with flexion at the elbow about 25 cm. from the sternum. Observe for 10 seconds. Score amplitude of oscillations):

	Right	Left
0 - Normal.		
1 - Mild oscillations of finger (< 2 cm.).		
2 - Moderate oscillations of finger (2-6 cm.).		
3 - Severe oscillations of finger (> 6 cm.).		

2. **Nose-Finger Test (Assess kinetic or intention tremor during and towards the end of movement: examiner holds index finger at 90% reach of patient; test at least 3 nose-finger-nose trials; movement slow > 3 sec.):**

	Right	Left
0 - None		
1 - Mild (< 2 cm. amplitude).		
2 - Moderate (2-4 cm. amplitude or persisting through movement)		
3 - Severe (> 6 cm. & persisting through movement).		
4 - Too poorly coordinated to perform task.		

3. **Dysmetria (Fast Nose-Finger) Test : (Assess dysmetria: The patient touches tip of examiner's finger 8 times as rapidly as possible while the examiner moves his finger and stops at different locations at about 90% reach of the patient. Assess dysmetria – i.e. inaccuracy of reaching the target- at examiner's finger):**

	Right	Left
0 - None.		
1 - Mild (misses 2 or fewer times).		
2 - Moderate (misses 3-5 times).		
3 - Severe (misses 6-8 times.).		
4 - Too poorly coordinated to perform task.		

4. **Rapid Alternating Movements of Hands** (Forearm pronation/supination 15 cm. above thigh; 10 full cycles as fast as possible; assess rate, rhythm, accuracy; practice 10 cycles before rating, if time > 7 sec. add 1 to score. Use stopwatch):

	Right	Left
0 - Normal.		
1 - Mild (slightly irregular or slowed).		
2 - Moderate (irregular and slowed).		
3 - Too poorly coordinated to perform task.		

5. **Finger Taps** (index fingertip-to-thumb crease; 15 reps as fast as possible; practice 15 reps once before rating; if time > 6 sec., add 1 to rating. Use stopwatch):

	Right	Left
0 - Normal.		
1 - Mild (misses 1-3 times).		
2 - Moderate (misses 4-9 times).		
3 - Severe (misses 10-15 times).		
4 - Cannot perform the task.		

TOTAL UPPER LIMB COORDINATION SCORE

C. LOWER LIMB COORDINATION

1. **Heel Along Shin Slide** (under visual control, slide heel on the contralateral tibia from the patella to the ankle up and down, 3 cycles at moderate speed, 2 sec./cycle, one at a time. May be seated with contralateral leg extended or supine but perform same way each time. Circle which: supine seated):

- 0 - Normal (stay on shin).
 1 - Mild (abnormally slow, tremulous but contact maintained).
 2 - Moderate (goes off shin a total of 3 or fewer times during 3 cycles).
 3 - Severe (goes off shin 4 or more times during 3 cycles).
 4 - Too poorly coordinated to attempt the task.

Right

☐

Left

☐

2. **Heel-to-Shin Tap** (patient taps heel on midpoint of contralateral shin 8 times on each side from about 6-10", one at a time. May be seated with contralateral leg extended or supine but perform the same way each time. Circle which: supine seated):

- 0 - Normal (stays on target).
 1 - Mild (misses shin 2 or < times).
 2 - Moderate (misses shin 3-5 times).
 3 - Severe (misses shin > 4 times).
 4 - Too poorly coordinated to perform task.

Right

☐

Left

☐

TOTAL LOWER LIMB COORDINATION SCORE

☐

D. PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM

1. **Muscle Atrophy** (score most severe atrophy in either upper or lower limb):

- 0 - None.
 1 - Present - mild/moderate
 2 - Severe/total wasting

Right

☐

Left

☐

2. **Muscle Weakness** (Test deltoids, interossei, iliopsoas and tibialis anterior. Score most severe weakness in either upper or lower limb):

Right

☐☐

Left

- 0 - Normal (5/5).
 1 - Mild (movement against resistance but not full power 4/5).
 2 - Moderate (movement against gravity but not with added resistance 3/5).
 3 - Severe (movement of joint but not against gravity 2/5).
 4 - Near paralysis (muscular activity without movement 1/5).
 5 - Total paralysis (0/5).

3. **Vibratory Sense** (Educate patient regarding the sensation. Tested with 128 cps tuning fork set to near full vibration; eyes closed; test over index finger and great toe. Abnormal < 15 seconds for toes and <25 seconds for hands):

	Right	Left
Time felt for toes:	_____	_____
Time felt for fingers:	_____	_____

- 0 - Normal.
 1 - Impaired at toes.
 2 - Impaired at toes or fingers.

Right	Left
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

4. **Position Sense** (test using minimal random movement of distal interphalangeal joints of index finger and big toe)

- 0 - Normal.
 1 - Impaired at toes/or fingers.
 2 - Impaired at toes and fingers.

Right	Left
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

5. **DTR** (0-absent; 1 -hyporeflexia; 2 -normal; 3 -hyperreflexia; 4 -pathologic hyperreflexia)

Right:				
BJ_____	BrJ_____	KJ_____	AJ_____	
Left:				
BJ_____	BrJ_____	KJ_____	AJ_____	

- 0 - No areflexia.
 1 - Areflexia in either upper or lower limbs.
 2 - Generalized areflexia.

Left

Right

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------

TOTAL PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM SCORE

☐

- E. **UPRIGHT STABILITY** (For sitting posture patient can sit in a chair or examination table. For standing and walking assessment instruct patient to wear best walking shoes and record below if barefoot, footwear or AFOs used. Stance assessment begins with feet 20 cm apart. Place marker tapes in the exam room 20 cm apart and the insides of the feet are lined up against these. Subsequent stance tests get more difficult. For feet together the entire inside of the feet should be close together as much as possible. For tandem stance, the dominant foot is in the back and the heel of the other foot is lined with the toes of the dominant foot but not in front of the toes (because this makes it even more difficult). For one foot stance, the patient is asked to stand on dominant foot and the other leg is elevated by bringing it forward with knee extended; this gives some advantage to the patient. If a patient can stand in a particular position for 1 minutes or longer in trial 1, the trials 2 and 3 are abandoned. Otherwise each of 3 trials is timed and then averaged. Grading scores are then given as noted. Tandem walk and gait are performed in a hallway. Preferably no carpet but at least serial examinations should be on the same surface. For gait place markers 25 feet apart. Patient walks the distance turns around and comes back and the activity is timed. Note if the gait was achieved with or without device and serial examinations should be done with the same device as in the first examination.

Stance and gait tests may be done barefoot if patient does have appropriate footwear, however, it should be done the same way for serial measurement.)

Circle which: Barefoot Footwear

Also, indicate if AFOs are used: Yes No

1. Sitting Posture (Patient seated in chair with thighs together, arms folded, back unsupported; observe for 30 sec.):

- 0 - Normal.
- 1 - Mild oscillations of head/trunk without touching chair back or side.
- 2 - Moderate oscillations of head/trunk; needs contact with chair back or side for stability.
- 3 - Severe oscillations of head/trunk; needs contact with chair back or side for stability.
- 4 - Support on all 4 sides for stability.

2. Stance feet apart– Inside of feet 20 cm apart marked on floor. Use stopwatch; 3 attempts; time in seconds):

Trial 1

Trial 2

Trial 3

AVG

- 0 - 1 minute or longer.
- 1 - <1 minute, >45 sec.
- 2 - <45 sec., >30 sec.
- 3 - <30 sec., >15 sec.
- 4 - <15 sec. or needs hands held by assistant/device.

3. Stance - Feet Together (use stopwatch; 3 attempts; time in seconds):

Trial 1

Trial 2

Trial 3

AVG

- 0 - 1 minute or longer.
- 1 - <1 minute, >45 sec.
- 2 - <45 sec., >30 sec.
- 3 - <30 sec., >15 sec.
- 4 - <15 sec.

4. Tandem Stance (use stopwatch; 3 attempts, dominant foot in front; time in seconds)

Trial 1

Trial 2

Trial 3

AVG

- 0 - 1 minute or longer.
- 1 - <1 minute, >45 sec.
- 2 - <45 sec., >30 sec.
- 3 - <30 sec., >15 sec.
- 4 - <15 sec.

5. Stance on Dominant Foot (use stopwatch; 3 attempts; time in seconds):

Trial 1

Trial 2

Trial 3

AVG

- 0 - 1 minute or longer.
- 1 - <1 minute, >45 sec.
- 2 - <45 sec., >30 sec.
- 3 - <30 sec., >15 sec.
- 4 - <15 sec.

6. Tandem Walk (tandem walk 10 steps in straight line; performed in hallway with no furniture within reach of 1 m / 3 ft. and no loose carpet):

- 0 - Normal (able to tandem walk >8 sequential steps).
- 1 - Able to tandem walk in < perfect manner/can tandem walk >4 sequential steps, but <8.
- 2 - Can tandem walk, but fewer than 4 steps before losing balance.
- 3 - Too poorly coordinated to attempt task.

7. **Gait** (use stopwatch; walk 8 m/25 ft. at **normal pace**, turn around using single step pivot and return to start; performed in hallway with no furniture within reach of 1 m/3 ft. and no loose carpet):

Device, if any: _____

Time in seconds: _____

- 0 - Normal.
- 1 - Mild ataxia/veering/difficulty in turning; no cane/other support needed to be safe.
- 2 - Walks with definite ataxia; may need intermittent support/or examiner needs to walk with patient for safety sake.
- 3 - Moderate ataxia/veering/difficulty in turning; walking requires cane/holding onto examiner with one hand to be safe.
- 4 - Severe ataxia/veering; walker or both hands of examiner needed.
- 5 - Cannot walk even with assistance (wheelchair bound)

TOTAL UPRIGHT STABILITY SCORE

TOTAL NEUROLOGIC EXAMINATION SCORE

IV. INSTRUMENTAL TESTING

1. **PATA Rate** (Use a tape recorder that can play at slow and fast speeds (1.2 & 2.4 cm/sec).

Record at normal (2.4) speed. Use a digital stopwatch. Patient seated comfortably and instructed to repeat the syllable "pata" as quickly and distinctly as possible for 10 seconds until told to stop. Start recorder and record patient's name and date. Preset stopwatch for 10 seconds. Say "go" and as soon as patient starts speaking, start timer. Say "stop" when timer beeps at end of 10 seconds. Perform test twice and count # of "patas" for each 10 seconds, using playback at slower speed.

Record number for each trial and also the average score):

Trial 1

Trial 2

AVG

2. **Nine-Hole Pegboard** (Make sure the stopwatch is set to zero. Introduce this section by saying, "**Now, we're going to be measuring your arm and hand function.**" If this is the first visit, as, "**Are you right- or left-handed?**" Make a note of the dominant hand for subsequent instructions. Place the 9-HPT apparatus on the table directly in front of the patient. Arrange the apparatus so that the side with the pegs is in front of the hand being tested and the side with the empty pegboard is in front of the hand not being tested. Secure with Dycem. Read the following instructions to the patient: "**On this test, I want you to pick up the pegs one at a time, using one hand only, and put them into the holes as quickly as you can in any order until all the holes are filled. Then, without pausing, remove the pegs one at a time and return them to the container as quickly as you can. We'll have you do this two (2) times with each hand. We'll start with your [DOMINANT] hand. You can hold the peg board steady with you [NON-DOMINANT] hand. If a peg falls onto the table, you retrieve it and continue with the task. If a peg falls on the floor, keep working on the task and I will retrieve**

it for you. See how fast you can put all the pegs in and take them out again. Are your ready? Begin."

Start timing as soon as the patient touches the first peg, and stop timing when the last peg hits the container. If a peg drops on the floor, the examiner will retrieve it and put it back in the peg box. However, if a peg drops onto the table, the patient is to retrieve it unless it is beyond their arm reach then you can retrieve it for them. It is possible that a peg may fall beyond the reach of the examiner therefore; we recommend that you keep a few extra pegs in hand so that testing is not interrupted. Do not put extra pegs in the testing apparatus as this may confuse the subject. Record the patient's time under "Dominant hand -- Trial 1." If the subject stops after having put all the pegs into the holes, prompt the subject to move them as well by saying, "And now remove them all." If the subject begins to remove more than one peg at a time, correct him/her by saying, "Pick up one peg at a time."

The total time to complete the task is recorded in seconds including one decimal place rounded as needed. Round up to the next tenth if hundredth's place is $\geq .05$, round down in hundredth's place is < 0.5 .)

	RIGHT		LEFT
Trial 1	<input style="width: 100px; height: 30px;" type="text"/>	Trial 1	<input style="width: 100px; height: 30px;" type="text"/>
Trial 2	<input style="width: 100px; height: 30px;" type="text"/>	Trial 2	<input style="width: 100px; height: 30px;" type="text"/>
AVG	<input style="width: 100px; height: 30px;" type="text"/>	AVG	<input style="width: 100px; height: 30px;" type="text"/>

5- ESCALA: SCOPA-AUT - ESCALA DE AVALIAÇÃO AUTONÔMICA

Autor: Francisco Javier Carod-Artal, MD, PhD

Através deste questionário, gostaríamos de saber até que ponto você teve problemas funcionais em diferentes partes de seu corpo durante o último mês, por exemplo, ao urinar ou por sudorese excessiva. Para responder, deve-se marcar um "X" no quadrado que melhor reflete a sua situação. Se você quiser mudar uma resposta, deve riscar o quadrado errado e marcar um "X" no quadrado correto. Se você tiver tomado durante o último mês alguma medicação para algum (s) dos problemas que serão mencionados, então a pergunta se refere a como você estava enquanto tomava a medicação.

- Durante o último mês, teve dificuldades para engolir ou se engasgou?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nunca	Raramente	Ocasionalmente	Freqüentemente
- Durante o último mês, você babou?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nunca	Raramente	Ocasionalmente	Freqüentemente
- Durante o último mês, ficou com a comida "atravessada" na garganta?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nunca	Raramente	Ocasionalmente	Freqüentemente
- Durante o último mês, sentiu-se "estufado" enquanto comia?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nunca	Raramente	Ocasionalmente	Freqüentemente

As seguintes perguntas são sobre constipação, um transtorno intestinal que significa evacuar duas vezes ou menos por semana.

5. Durante o último mês, teve prisão de ventre?

☐

Nunca

☐

Raramente

☐

Ocasionalmente

☐

Freqüentemente

6. Durante o último mês, teve que fazer força para evacuar?

☐

Nunca

☐

Raramente

☐

Ocasionalmente

☐

Freqüentemente

7. Durante o último mês, teve incontinência fecal (perdeu as fezes involuntariamente)?

☐

Nunca

☐

Raramente

☐

Ocasionalmente

☐

Freqüentemente

As perguntas 8 a 13 se referem a problemas ao urinar. Se você usa sonda pode indicá-lo marcando um "X" no quadrado "uso sonda".

8. Durante o último mês, teve dificuldade para segurar a urina?

☐

Nunca

☐

Raramente

☐

Ocasionalmente

☐

Freqüentemente

☐

Uso sonda

9. Durante o último mês, teve perdas involuntárias de urina?

☐

Nunca

☐

Raramente

☐

Ocasionalmente

☐

Freqüentemente

☐

Uso sonda

10. Durante o último mês, teve a sensação de que, depois de urinar, a bexiga não tinha esvaziado completamente?

☐

Nunca

☐

Raramente

☐

Ocasionalmente

☐

Freqüentemente

☐

Uso sonda

11. Durante o último mês, o jato da urina esteve fraco?

☐

Nunca

☐

Raramente

☐

Ocasionalmente

☐

Freqüentemente

☐

Uso sonda

12. Durante o último mês, você teve que urinar de novo com menos de 2 horas após ter urinado?

☐

Nunca

☐

Raramente

☐

Ocasionalmente

☐

Frecuentemente

☐

Uso sonda

13. Durante o último mês, teve que urinar durante a noite?

☐

Nunca

☐

Raramente

☐

Ocasionalmente

☐

Freqüentemente

☐

Uso sonda

14. Durante o último mês, ao ficar em pé, teve a sensação de tontura, alteração da visão ou dificuldade para pensar com clareza?

☐ Nunca
 ☐ Raramente
 ☐ Ocasionalmente
 ☐ Frequentemente

15. Durante o último mês, sentiu-se tonto ao ficar em pé durante algum tempo?

☐ Nunca
 ☐ Raramente
 ☐ Ocasionalmente
 ☐ Frequentemente

16. Teve desmaio nos últimos 6 meses?

☐ Nunca
 ☐ Raramente
 ☐ Ocasionalmente
 ☐ Frequentemente

17. Durante o último mês, suou demais durante o dia?

☐ Nunca
 ☐ Raramente
 ☐ Ocasionalmente
 ☐ Frequentemente

18. Durante o último mês, suou demais durante a noite?

☐ Nunca
 ☐ Raramente
 ☐ Ocasionalmente
 ☐ Frequentemente

19. Durante o último mês, teve problemas para tolerar o frio?

☐ Nunca
 ☐ Raramente
 ☐ Ocasionalmente
 ☐ Frequentemente

20. Durante o último mês, teve problemas para tolerar o calor?

☐ Nunca
 ☐ Raramente
 ☐ Ocasionalmente
 ☐ Frequentemente

21. Durante o último mês, achou que seus olhos estavam muito sensíveis à luz forte?

☐ Nunca
 ☐ Raramente
 ☐ Ocasionalmente

As seguintes perguntas são sobre a atividade sexual. Embora saibamos que a sexualidade é um tema muito íntimo, precisamos que responda a estas perguntas. Com respeito às perguntas sobre atividade sexual, considere contato sexual as relações sexuais com um (a) parceiro (a) ou a masturbação. Outra opção é indicar que a situação descrita não se aplica, por exemplo, se durante o último mês não teve relações sexuais. As perguntas 22 e 23 são específicas para homens e as perguntas 24 e 25 para mulheres.

As seguintes perguntas são **SOMENTE PARA HOMENS**.

22. Durante o último mês, apresentou impotência (incapacidade de ter ou manter uma ereção)?

☐ Nunca
 ☐ Raramente
 ☐ Ocasionalmente
 ☐ Frequentemente
 ☐ Não se aplica

23. Durante o último mês, com que frequência você foi incapaz de ejacular?

☐ Nunca ☐ Raramente ☐ Ocasionalmente ☐ Frequentemente ☐ Não se aplica

23a. Durante o último mês, teve que tomar alguma medicação por dificuldades de ereção? (Se for o caso, qual medicação?)

☐ Não ☐ Sim – Qual? : _____

As seguintes perguntas são **SOMENTE PARA MULHERES**.

24. Durante o último mês, está apresentando ressecamento (secura) vaginal durante a relação sexual?

☐ Nunca ☐ Raramente ☐ Ocasionalmente ☐ Frequentemente ☐ Não se aplica

25. Durante o último mês, teve dificuldade para ter orgasmo?

☐ Nunca ☐ Raramente ☐ Ocasionalmente ☐ Frequentemente ☐ Não se aplica

PONTUAÇÃO

SCOPA Autonômica	
------------------	--

6- EXAME FÍSICO- avaliação autonômica:

PA: deitado: _____ X _____ em pé: _____ X _____
 FC: deitado: _____ bpm em pé: _____ bpm
 Hipotensão ortostática presente? () Sim () Não
 Pupilas: _____

7- AVALIAÇÃO NEUROFISIOLÓGICA

A) Intervalo RR:

Repouso:

6 ciclos de 20 RR/ 1-2 min

RR Max	RR min	Mean	SD	RR50	%RR50	CV

Análise espectral:

FFT	MEM
LF	LF
LF Power	LF Peak
LFPA	LFA
HF	HF
HF Power	HF Peak
HFA	HFA
LF/HF	LF/FH
LFPA/HFPA	LFA/HFA
T Power	T Value

Resposta cardiovascular após ficar em pé e razão 30:15:

1-3 min após 3 min em pé

30:15: maior RR que ocorre ao redor do 30º batimento após ter ficado em pé dividido pelo menor RR ao redor do 15º batimento após ter ficado em pé.

RR Max	RR min	Mean	SD	RR50	%RR50	CV

Valsalva

40mmHg por 15 s: registrar durante e 30-45 s depois

Repetir mais 2 vezes

RR Max	RR min	Mean	SD	RR50	%RR50	CV

Respiração profunda

Cabeça elevada 30°

6 respirações por minuto (5s de inspiração e 5 s de expiração)

RR Max	RR min	Mean	SD	RR50	%RR50	CV

Reflexo axonal sudomotor quantitativo:

Latência: _____ min

Débito: _____ $\mu\text{L}/\text{cm}^2$

Morfologia:

4. Parecer Comitê de Ética- Estudo de função autonômica

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Disautonomia na Ataxia de Friedreich

Pesquisador: Karen Antonia Giroto Takazaki

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 48960215.3.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da UNICAMP

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.242.480

Apresentação do Projeto:

"Ataxia de Friedreich é a ataxia autossômica recessiva mais frequente, causada por uma expansão de tripletos GAA em homozigose no primeiro íntron do gene *fxn*, localizado no cromossomo 9. Trata-se de uma doença neurodegenerativa de início precoce, com curso progressivo. A patologia é caracterizada por perda neuronal nos gânglios das raízes dorsais, seguida por degeneração da coluna dorsal da medula espinhal e dos tractos espinocerebelares, atrofia da medula espinhal e do núcleo dentado de cerebelo. Os estudos clínicos prévios realizados na Ataxia de Friedreich focaram na incapacidade motora e muito pouco é conhecido sobre sintomas não-motores. Existem poucos estudos direcionados ao acometimento do sistema nervoso autonômico nessa doença. Dessa forma, o presente trabalho objetiva estimar a frequência e a relevância clínica das manifestações disautônômicas, bem como avaliar possíveis fatores associados ao seu aparecimento. Para tanto, serão selecionados 25 pacientes com diagnóstico confirmado (por testes moleculares) de Ataxia de Friedreich e um grupo de controles sadios para inclusão na pesquisa. Os pacientes serão submetidos à a) avaliação clínica-neurológica, com a utilização de escalas padronizadas; b) estudo neurofisiológico da variabilidade da frequência cardíaca; c) estudo quantitativo do reflexo axonal sudomotor. Os dados obtidos serão armazenados em banco de dados e comparados segundo análise estatística apropriada".

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.242.480

Objetivo da Pesquisa:

Estudar a frequência e a relevância clínica das manifestações autonômicas na Ataxia de Friedreich: 1. Quantificar a gravidade da ataxia; 2. Quantificar a frequência e tipo de manifestações disautônômicas; 3. Determinar o padrão de variabilidade da frequência cardíaca nos pacientes; 4. Correlacionar os parâmetros clínicos e neurofisiológicos de função autonômica com dados demográficos e genéticos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Será realizado exame de eletrocardiograma prolongado (5 minutos) e estudo do reflexo axonal sudomotor quantitativo. Os riscos envolvidos neste procedimento são mínimos, podendo ocorrer leve vermelhidão e desconforto pela injeção de acetilcolina na pele no segundo procedimento. Benefícios: Há a possibilidade de o estudo modificar o plano de tratamento do paciente e, assim, trazer benefícios diretos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa apresentada como trabalho de doutorado da pós-graduanda Karen A. G. Takazaki. Nesta pesquisa, pretende-se avaliar a frequência e a relevância clínica das manifestações autonômicas na Ataxia de Friedreich. Para isso, pretende-se incluir 25 pacientes sintomáticos regularmente acompanhados nos ambulatórios de Neurogenética do HC-UNICAMP com Ataxia de Friedrich confirmada por teste molecular e 25 indivíduos controles saudáveis com distribuição de idade e sexo semelhante aos pacientes com Ataxia de Friedreich. Os participantes controles serão convidados entre os acompanhantes dos pacientes nos ambulatórios de Neurogenética e funcionários e médicos do HC-UNICAMP; para este grupo, os critérios de inclusão serão: histórico familiar negativo para ataxias e/ou neuropatias hereditárias, ausência de sintomatologia neurológica e exame clínico-neurológico normal. Os participantes do estudo serão submetidos a uma avaliação clínica, com anamnese dirigida e exame neurológico, os quais foram descritos com detalhes no projeto e formulário da plataforma Brasil.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados:

1. Folha de rosto assinada pela pesquisadora responsável, Karen Antônia Giroto Takazaki e por Antônio Gonçalves de Oliveira Filho, Coordenador de Assistência do Hospital de Clínicas da Unicamp, instituição indicada como proponente;
2. Termo de consentimento Livre Esclarecido;

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126		
Bairro: Barão Geraldo		CEP: 13.083-887
UF: SP	Município: CAMPINAS	
Telefone: (19)3521-8936	Fax: (19)3521-7187	E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.242.480

3. Formulário da Plataforma Brasil com as informações básicas sobre o projeto.
4. Projeto completo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

1. Não há pendências ou inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O sujeito de pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado.
- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.
- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

**COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS**



Continuação do Parecer: 1.242.480

deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

-Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	projeto doutorado karen.doc	15/05/2015 10:47:10		Aceito
Folha de Rosto	55.pdf	15/05/2015 10:42:34		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO 513575.pdf	15/05/2015 10:48:15		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEdoutorado1.pdf	28/08/2015 17:07:12	Karen Antonia Giroto Takazaki	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetodoutoradokaren.pdf	28/08/2015 17:07:32	Karen Antonia Giroto Takazaki	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO 513575.pdf	28/08/2015 17:07:57		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 24 de Setembro de 2015

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

4. Parecer Comitê de Ética- Estudo de Ressonância Cardíaca

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da miocardiopatia na Ataxia de Friedreich utilizando Ressonância Magnética e Espectroscopia Funcional

Pesquisador: Marcondes Cavalcante França Junior

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 20706413.2.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas - UNICAMP

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 433.313

Data da Relatoria: 28/10/2013

Apresentação do Projeto:

Parecer reenviado após correções sugeridas, estando o trabalho, agora, adequado diante das proposições solicitadas a saber

- 1- Encontra-se destacada a situação do contraste gadolínio e o seu número de registro na ANVISA.
- 2- Foi incluso um TCLE a ser apresentado especificamente para os participantes do grupo controle e sujeitos saudáveis.
- 3- Área temática do projeto foi informada na PB.
- 4- O item objetivos da pesquisa foi reescrito de forma a ser mais sucinto e utilizando linguagem acessível a leigos.
- 5- Os benefícios diretos da pesquisa para os portadores da Ataxia de Friedreich foram reforçados no texto da proposta.
- 6- No TCLE para indivíduos saudáveis os riscos e desconfortos são descritos e os benefícios sociais e pessoais foram discriminados.

Objetivo da Pesquisa:

Investigar o comprometimento cardíaco na FRDA e sua repercussão hemodinâmica periférica.

Objetivo Secundário:

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

**FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)**



Continuação do Parecer: 433.313

1. Quantificar a fração do volume extracelular do miocárdio a partir da RMC nos pacientes com FRDA e comparar com controles.
2. Quantificar o índice de fibrose do miocárdio a partir da RMC nos pacientes com FRDA e comparar com controles.
3. Quantificar o depósito de ferro (T2*) a partir da RMC nos pacientes com FRDA e comparar com controles.
4. Correlacionar os parâmetros de RMC acima descritos com dados clínicos e genéticos dos pacientes com FRDA.
5. Correlacionar a medida do índice de fibrose (IF), no sentido de validar esta nova técnica derivada de RMC para seguir clinicamente pacientes com FRDA.
6. Correlacionar o IF assim como todas as outras variáveis da RMC como RT, volumes e massa ventricular, com o estadiamento da AF especialmente em estados iniciais.
7. Estudar e comparar as curvas de hemodinâmica em resposta a esforço físico do braço em pessoas com FRDA com as de controles.
8. Correlacionar diferentes parâmetros da hemodinâmica como extração de O₂ e t_{1/2} de recuperação da ζ [HbO] com o estadiamento da AF.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O único desconforto relacionado ao exame de ressonância magnética é o ruído intermitente durante os primeiros 15 minutos. Depois disso o ruído será muito menor. O pessoal técnico providenciará tapa-ouvidos para me deixar mais confortável. O exame será realizado com o uso de contraste (gadolínio), aplicado por via venosa. Este contraste é seguro, utilizado de rotina e com risco muito pequeno de desencadear reações alérgicas. Uma das principais vantagens da ressonância magnética é que esta não utiliza raios X ou outro tipo de radiação ionizante, ao contrário de outros tipos de exame radiológicos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Critérios de inclusão dos pacientes:

- Pacientes regularmente acompanhados nos ambulatórios de Neurogenética e de Doenças neuromusculares do HC-UNICAMP com FRDA confirmada, mediante teste molecular.

Critérios de exclusão dos pacientes:

- Portadores de ataxia espinocerebelar sem confirmação molecular de FRDA;
- Portadores de outras doenças neurológicas ou clínicas causadoras de dano medular (trauma raquimedular, mielites, esclerose múltipla);
- Pacientes com contra-indicação para a realização de RM (marcapasso cardíaco, próteses

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

**FACULDADE DE CIENCIAS
MEDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)**



Continuação do Parecer: 433.313

recentes, claustrofóbicos);

- Portadores assintomáticos da mutação responsável pela FRDA;
- Insuficiência renal com taxa de filtração glomerular $<40\text{ml/min/1.73m}^2$;
- História pregressa de infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva ou revascularização miocárdica, quer seja percutânea ou cirúrgica;
- História pregressa de cardiopatia valvar significativa.

Crítérios de inclusão do grupo controle:

Serão recrutados indivíduos saudáveis com distribuição de idade e sexo semelhante aos pacientes com FRDA e selecionados entre os acompanhantes dos pacientes acompanhados nos ambulatórios de Neurogenética e de Doenças neuromusculares, com as seguintes características:

- Histórico familiar negativo para ataxias e/ou neuropatias hereditárias e/ou doenças cardíacas; ausência de sintomatologia neurológica; exame clínico-neurológico normal.

Os critérios de exclusão para este grupo serão: Presença de contraindicações formais para a realização de exames de ressonância magnética como portadores ou desfibriladores cardíaco de qualquer tipo, clips metálicos para aneurismas cerebrais, implantes cocleares e válvulas de derivação ventrículo peritoneal.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLEs estão adequados tanto para pacientes quanto para sujeitos controles. A nova versão do projeto informa claramente que a constituição do grupo controle foi modificada e será constituída por acompanhantes de pacientes que frequentam o Ambulatório de Neurogenética e de Doenças neuromusculares.

Pesquisadores também destacaram a situação do contraste gadolínio e o seu número de registro na ANVISA.

Recomendações:

—

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado, após resolução de pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

**FACULDADE DE CIENCIAS
MEDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)**



Continuação do Parecer: 433.313

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Ao pesquisador cabe desenvolver o projeto conforme delineado, elaborar e apresentar os relatórios parciais e final, bem como encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto (Resolução 466/2012 CNS/MS).

CAMPINAS, 23 de Outubro de 2013


Assinador por:
Fátima Aparecida Bottcher Luiz
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br


5. Autorização da editora Elsevier para uso do artigo na presente tese

Rightslink® by Copyright Clearance Center

Page 1 of 1



RightsLink®

[Home](#)
[Create Account](#)
[Help](#)


Title: Sudomotor dysfunction is frequent and correlates with disability in Friedreich ataxia

Author: Karen A.G. Takazaki, Thiago Junqueira R. Rezende, Alberto R.M. Martinez, Carelis Gonzalez-Salazar, Anamarli Nucci, Iscia Lopes-Cendes, Marcondes C. França

Publication: Clinical Neurophysiology

Publisher: Elsevier

Date: November 2018

© 2018 International Federation of Clinical Neurophysiology. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

LOGIN

If you're a [copyright.com](#) user, you can login to RightsLink using your copyright.com credentials. Already a [RightsLink user](#) or want to [register](#)?

Please note that, as the author of this Elsevier article, you retain the right to include it in a thesis or dissertation, provided it is not published commercially. Permission is not required, but please ensure that you reference the journal as the original source. For more information on this and on your other retained rights, please visit: [rights](#)

[rights](#)

BACK

CLOSE WINDOW

Copyright © 2019 [Copyright Clearance Center](#). All Rights Reserved. [View our privacy policy](#). [Contact us](#). [Feedback](#).
Comments? We would like to hear from you. E-mail us at comments@copyright.com